

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

89. Band

Mit 90 Abbildungen im Text und 1 Tafel



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1933/34

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 1|4.
Ausgegeben am 2. Oktober 1933.

Nachdruck verboten.

Studies on Bacteriophage in Relation to Phytopathogenic bacteria.

[Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich.]

By **Kenneth S. Chester.**

With 1 figure in the text.

I. Introduction.

Ten years ago Gerretsen, Gryns, Sack, and Söhngen discovered that bacteriophage, the self-propagating bacteriolytic principle causing the Twort-D'Herelle phenomenon in bacteriology, is not limited to animal life, but that it may also be demonstrated in plants, notably in the root-tubercles of Leguminosae. Our knowledge of bacteriphage from the medical, and zoological standpoints is today far from complete, as is witnessed by the current heated controversies over such problems as the essential nature of the bacteriophage body, its relation to the vitality of the bacteria attacked, and its functions in animal health and disease. If the parent field of investigation is yet in a controversial and unsettled state, even more nebulous and fragmentary is our knowledge in the daughter field of investigation, -bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria. It is today no time to speculate over the possible profound influences of bacteriophage in the processes of health and disease in plants. Our attention at present must be focussed on the experimentally demonstrable facts of bacteriophage in relation to plants, and only from a thorough, critical, and exhaustive exploration of such facts can we in years to come arrive at sound conclusions as to the precise rôle of bacteriophage in plant life. Our knowledge of the nature and meaning of bacteriophage is likely to be profoundly modified in the next decades, and our task at present is slowly, from a sound foundation, to build up a sound structure of exact experiments, our minds open, and unbiased until such time as the empirical data assembled lead us unerringly to a solution of the fundamental theoretical problems involved.

Such was the point of view with which these studies were undertaken and executed. On examination of the relatively meagre literature of the problem it was soon apparent that in order to accomplish the ends desired it would be necessary to start at the very beginning, using as the only working hypothesis the statement of Gerretsen, and his colleagues, and of other subsequent investigators, that bacteriophage has been demonstrated in extracts from plant tissues. There exists a fairly complete body of data from the medical laboratories regarding the techni[illegible] ture and demonstration. But the writer has poi[illegible] nection the grave danger that may result in attem[illegible] ysiological botany the highly specialized techniques [illegible] cal research, and

this danger is fully as great in a study of bacteriophage as it has been shown to be in immunological studies. Accordingly throughout the entire period of the investigations herein reported, and exclusively throughout the first months of the study, attention was directed to a development of a standard technique of investigation which would result in the invariable demonstration of bacteriophage in tissues containing this principle, and the culture through many passages of the active principle without decrease of virulence. Much remains to be learned regarding such techniques, but the studies here reported have been successful in eliminating many of the failures and irregularities heretofore observed. Accordingly, a large part of the present paper will be devoted to a discussion of the value of various techniques as revealed by comparative experiments.

Having developed a standard technique which, while susceptible to many improvements, is yet reasonably efficient in demonstrating and maintaining bacteriophage of plant source, the next step was to investigate as thoroughly as possible, in the time permitted, the occurrence of bacteriophage in plant tissues of various types. In view of the considerable time required for the demonstration of bacteriophage in a single tissue (at least three weeks) and the limited number of tissues which can be simultaneously tested, the examinations reported below consist in investigations of the occurrence of bacteriophage in only 200 individual plant tissues, of which only 120 can be considered as significant because of the fluctuations due to technique development in the earlier tests. Although this number is small, it is in excess of that reported in any study up to the present. In all, the present paper is based on the results of approximately 50,000 observations of some 12,000 inoculated tubes, of which the first 25,000 observations are considereded as exploratory and without basic significance in drawing conclusions as to the occurrence of bacteriophage in plant tissues.

A third type of investigation, namely of the effect of bacteriophage *in vivo* as seen in the artificial inoculation of plants will be considered in a subsequent publication.

In conclusion it is to be emphatically urged that the present study, although intensive in comparison with most of the literature thus far available in this field, is merely an introduction to the possibilities of investigation of bacteriophage in plants. It represents a progress report; as such it has been fruitful; but the whole problem is yet in its infancy, and more extended investigations are needed before one can visualize with clearness the rôle of bacteriophage in plant health and disease.

II. Historical survey.

In point of time, bacteriophage in plant tissues was first simultaneously but independently recognized by Gerretsen and Gryns and by Sack and Söhngen. Their findings, which were published jointly (q), include the isolation from the roots and stems (but not leaves) of *Trifolium*, *Lupinus*, and *Serradella* of bacteriophages which were reported to be highly species-specific. Bacteriophage was also isolated from garden and field soils but not from forest soils. The lytic principle found was heat-resistant to 60—65° C., resistant to drying (two months), passed through thin but not thick collodion membranes, and was at least eight times as resistant to ultraviolet light as the corresponding bacteria. The authors were of the opinion that the bacteriophage present in such root

tubercles is the explanation of the dissolution of the tubercle bacilli in vivo. The findings of Gerretsen et al. have since been confirmed by Israilsky (13) although the latter differed from the earlier workers in failing to find any species-specificity apparent in tests of the bacteriophages from six Leguminosae.

Since this paper is primarily concerned with the bacteriophage of Bacterium tumefaciens, no attempt will be made here to enter into a detailed discussion of the literature of bacteriophage of other phytopathogenic bacteria. The occurrence of bacteriophage or of similar phenomena in connection with phytopathogenic bacteria other than Bact. tumefaciens has, however, been observed by a number of workers, notably by Mallmann and Hemstreet in rotted cabbage (17), by Coons and Kotila in rotted carrot and river water (8), by Moore in bacterial diseased tobacco leaves (19), by Anderson in soil beneath diseased peach trees (1), by Bewley in mosaic diseased tobacco and tomato (4,5), and by others. For those interested in pursuing the general literature in greater detail the critical reviews of Sibilia (21) and Jaczewski (14) will be of value.

Coons and Kotila in 1925 (8) found that their cabbage-bacteriophage was potent against Bacterium tumefaciens, but the first intensive study of bacteriophage in connection with the crown-gall organism was that of Israilsky in 1926 (11). Israilsky succeeded in isolating a bacteriophage potent against Bact. tumefaciens from crown galls experimentally produced in Beta vulgaris. The bacteriophage so obtained was active in a dilution of 10^{-10} after 12 filtrations, was virulent against some but not all races of Bact. tumefaciens, was thermostable to between 55° and 70° C., and was somewhat resistant to the presence of contaminations of foreign bacteria. Israilsky interpreted the paucity of bacteria in crown galls as due to the lytic and lethal actio of the bacteriophage. The following year in a continuation of his studies (12) the same worker also found bacteriophage present in certain stock cultures of his bacteria, a fact which tends to lend some question as to the significance of his earlier isolations. Attempts to isolate bacteriophage from healthy beets were unsuccessful. In a limited number of inoculation experiments of beet seedlings with and without bacteriophage the plants treated with bacteriophage + bacteria were somewhat less severely galled than the plants treated with bacteria alone.

In 1927 appeared a short paper by D'Herelle and Peyre (10) in which the authors advance the statement that stock cultures of Bact. tumefaciens may or may not contain a "symbiotic" or non-lethal bacteriophage, and that it is only such bacteriophage-bacteria associations which can cause crown gall. From this conception the authors arrive at the conclusion that the essential factor in causing crown gall is a filterable "proto-bacterian" form of Bact. tumefaciens developing in the presence of the bacteriophage, and they submit an experiment to show that ultra-filtrates of bacteriophage (hypothetically containing "protobacteria") can cause crown gall. Because of the great variability of infective potency in different strains of Bact. tumefaciens and the paucity of experimental data submitted by D'Herelle and Peyre, their theory cannot be considered as proven, and indeed Kauffmann (15, 16) and Brown and Quirk [illegible] in 1929 have arrived at opposite conclusions.

Kauffmann (15, 16) linked the botanical studies to the zoological studies by his discovery that fecal extracts may be active in dissolving both rough and smooth strains of Bact. tumefaciens. His experimental data are more extensive than those of D'Herelle and Peyre, but he was unable to produce crown gall in sunflower by inoculation of bacteria-free bacteriophage filtrates. Moreover he found that a bacteriophage-free strain of Bact. tumefaciens caused 90—100% galls in sunflowers in contrast with the protobacterial theory. He could not, on the other hand, demonstrate bacteriophage in plant galls, nor observe any prophylactic value of active bacteriophage in preventing experimental gall formation.

In 1929 Muncie and Patel (20) succeeded in obtaining bacteriophage from a pure culture of Bacterium tumefaciens and from an artificially induced beet gall. The bacteriophage isolations had a high titer, 10^{-10} to 10^{-14}, after 17 filtrations, exerted a prophylactic action on tomato plants, were thermostable up to 80—85° C., and were specific for the strain of crown gall organism from which they were derived. The experiments reported, however, are more of an exploratory than of an intensive character. The same year Israilsky (13) tested a radiobacter bacteriophage against Bact. tumefaciens in connection with his specificity studies of the former and found it to be ineffective in causing lysis of the crown gall organism.

Finally in 1929 Brown and Quirk (7) also investigated the question of bacteriophage in Bact. tumefaciens. They reported isolations of bacteriophage from the juices of galled castor-bean plants but experienced some irregularity in behavior of the bacteriophage thus obtained. In high dilution the bacteriophage had a stimulating effect on bacterial growth in culture and on tumor formation, and in higher concentration a retarding effect both in vitro and in vivo, a point of interest in connection with the reports of D'Herelle and others in the zoological field that a high dilution of bacteriophage may stimulate bacterial growth, at least temporarily. These workers also failed to confirm the theory of D'Herelle and Peyre of a filter-passing, tumor-producing form of Bact. tumefaciens. Brown and Quirk apparently experienced some difficulty in stabilizing the activity of the bacteriophage isolations, a difficulty presumably related to some of the many influential variables in this type of work, and one which will be treated of below. Their work also brings out the necessity of distinguishing between the effects of bacteriophage itself and the effects of the medium bearing the bacteriophage in accelerating or retarding bacterial lysis. In experiments of this type one can only be sure of observing an effect due to the bacteriophage itself after the dilutions of original inoculum have passed a point (in this paper arbitrarily set at 35 : 100,000) where the original plant extract might have an appreciable effect on bacterial growth.

We have seen from the preceding brief historical survey that beyond the fact that lytic principles active against phytpathogenic bacteria, in particular against Bact. tumefaciens, have been repeatedly isolated from plant tissues, there is hardly a point which is not controversial. Much of this controversy is due in the first place to variable technique, and in the second place to paucity of experimental data. Our historical survey thus leads us back to the point of view expressed in the introduction, that one may take as proven little more than the fact that bacteriophage has been

found in plants. Under what conditions it occurs, what rôle it plays in nature, what is its nature, — these are questions as yet entirely unsolved. Accordingly we are led first to the problem of technique, a problem to be discussed at length in the following section.

III. Technique.

In few biological problems does the question of technique assume the paramount importance that it does in the study of bacteriophage. For here we are dealing with a very delicate adjustment and play of interreactions in the laboratory between two organisms, or an organism and a lytic principle which shows many of the properties of living matter, the properties of both being capable of profound modifications through the activity of a wide number of variables. In nature and in the greenhouse the problem is even more complex, since here, in experiments *in vivo*, we must multiply our variables by those of the living host plant. To this complex may be added the inherent difficulty of dealing with an organism or principle which can be recognized and characterized only through its effects on a second organism, and the added difficulty that few of the technical problems in such a study have already been worked out. To bring order out of chaos in such a problem is a long and arduous process. One must begin with an arbitrary selection of a dozen or more constants and one by one learn the conditions under which lysis will occur, a process which is learned only at the cost of scores of preliminary failures. Such has been the course of the earlier months of the present study, but the result has been that a technique has been devised which demonstrates bacteriophage of *Bact. tumefaciens* with a surprising constancy. Many details remain to be more thoroughly investigated, the present technique is far from complete, but it has proved serviceable and is accordingly given in detail. For convenience the control of the many variables will be considered respectively from the points of view of apparatus, medium, bacteria, "bacteriophage" inoculum, procedure, evaluation of results, and determination of titer.

A. Apparatus.

The apparatus required for bacteriophage investigation is simple but of exacting requirements. For an ultra-filter the *Liliput Filterkerzen nach Silberschmidt* (*Wagner & Munz*, München) have been successfully used throughout this study. These filters when new are rapid and entirely impermeable to bacteria, and at first ordinary ignition at bright red heat will clean them sufficiently for repeated use. When the amount of ash accumulation renders filtration unduly slow, the ash may be removed without injury to the filter by a 24-hour immersion in concentrated HCl followed by thorough washing and ignition. (Ignition in addition to washing is imperative; 24 hours in running water will not remove all of the acid.) The filters are attached to ordinary 5—10 cc. vacuum tubes with rubber collars, and the whole sterilized under pressure. It has been found desirable to use two rubber collars, one (old and not necessarily tight) merely to hold the filter in place during sterilization, and a second of fresh, strong rubber which replaces the first after sterilization. The exchange may be performed in a formalin-disinfected inoculation chamber after sterilization without danger of contamination. The second cap need not be sterilized if care is taken in filling the filters. Extreme care must be used in filling the filters

with the substance to be filtered that no drops of fluid come in contact with the edge of the rubber collar lest they be sucked in by capillarity and contaminate the filtrate. A little ring of cotton between the vacuum tube and filter is of service in minimizing this danger and also in making the rubber fit more tightly. At first it was customary to leave the sterile filters for several hours in formalin vapor as an additional precaution, but this practice was later found to be of no real value and dangerous because of the possibility of solution of formalin in the water of condensation within the tubes and of subsequent toxic effect on the filtrate. Much wasted labor may be saved in the long run by numbering each filter with a diamond pencil and keeping an accurate record of the success or failure of each filtration. When one is using many filters such a process is invaluable in discovering persistently faulty units.

Most of the experiments reported here were with bouillon cultures in ordinary test-tubes. The only precautions necessary in this connection are that the test-tubes must all be of precisely the same size (10% of ordinary standard lots were found to be slightly too large or too small), the tubes must be scrupulously clean, the plugs must be of clean cotton, and the tubes must be protected from water of condensation while in the autoclave. Each of these seemingly minor points has been found to exert an important influence on the success of the experiments.

For transfer of bacteria and bacteriophage, sterile pipettes which deliver exactly 20 drops per cc. are to be recommended. Such are easily made but must be frequently re-tested.

B. Medium.

Forty lots of medium of twelve different formulas have been tested in this study for their suitability in bacteriophage demonstration. These media consisted in all cases of expressed fresh potato sap or cooked meat broth with or without the addition of various amounts of glucose, peptone, NaCl, and with or without titration to various pH values. The first tests were all performed using potato sap as the stock, and although many such media were decidedly favorable to the growth of Bact. tumefaciens, they were ultimately rejected because of their excessive acidity and their dark color, particularly after titration with alkali. Bacteriophage does show in such media if not too acid, but the dark color renders observation very difficult.

Although more experiments are necessary to work out this point, the experiments performed seem to show that a medium highly favorable to bacterial growth is not necessarily favorable to bacteriophage. Thus a medium composed of 10% potato sap + 90% water is much better for growth of Bact. tumefaciens than 50% potato sap, but the reverse is true as far as lysis is concerned. Lysis was fairly good in autoclaved potato sap 50% + glucose 3% + peptone 2%, although in such media bacterial growth was relatively poor. (See also below: section C. Bacteria.)

Early in the work herein reported bouillon was employed, first as an alternative with potato sap, later exclusively. Several formulae have been employed, namely:

1. 5 lbs. lean meat + 5 litres H_2O + 50 gm. peptone + 25 gm. NaCl.
2. 5 lbs. lean meat + 10 litres H_2O + 100 gm. peptone + 50 gm. NaCl.
3. 7 lbs. lean meat + 14 litres H_2O + 100 gm. peptone + 50 gm. NaCl.

4. 5 lbs. lean meat + 10 litres H_2O + 50 gm. peptone + 25 gm. NaCl.
5. 5 lbs. lean meat + 10 litres H_2O + 25 gm. peptone + 25 gm. NaCl.
6. 5 lbs. lean meat + 10 litres H_2O + 0 gm. peptone + 25 gm. NaCl.

In each case the constituents were autoclaved, the juice filtered, then used directly for filling the test tubes, after titrating with NaOH so that the pH after autoclaving would be approximately 7.0. Although all of these formulae have been favorable to bacteriophage demonstration, the fifth given above was slightly superior to the others. The smaller amounts of peptone favor bacterial development, but such development must apparently be controlled as is accomplished by the small percentage of peptone (25%). Such media are water-clear, only very slightly tinged with yellow, and are relatively constant from one lot to the next. Titration to neutrality (after final autoclaving) is accomplished by the addition of approximately 7 or 8 cc. of normal NaOH per litre of medium. Steriliziaton was in all cases performed by autoclaving at 120° C. for 20 minutes.

The amount of medium per test-tube must be accurately measured. This entails additional time but cannot be neglected. It is immaterial whether 5 or 10 cc. of medium per standard are employed; both have been tested with success; but guesswork methods of filling the tubes are to be discouraged, since variability of the amount of medium means variation in the concentrations of bacteria and bacteriophage, both of which do profoundly influence the degree of lysis. For the same reason the tubes must be protected from water of condensation while in the autoclave.

The pH of the medium is a property widely discussed on the zoological side, the empirical statements requiring a slightly to markedly alkaline medium for lysis. This is a point which is worthy of much more importance than has been possible in the present study. Herein lies a weighty difference between the plant and animal bodies. If bacteriophage can occur only in the alkaline range how can it be of importance in the plant kingdom? Brown and Quirk (7) have made some study of this problem and have come to the conclusion that the pH of the plant filtrate or of the culture of Bact. tumefaciens treated may determine the presence or absence of bacteriophage manifestation. Their best lysis was observed at pH 6.7 to pH 6.9. This matter, however, should be further studied. It is not enough merely to control the pH of the medium employed, but accurate readings must also be taken of the variation of pH in each medium from day to day, due to the metabolic processes of the bacteria.

In the course of the present study opportunity was available for only one experiment on the influence of pH. In this experiment, bouillon was titrated with NaOH so as to give, after final sterilization, the following series of pH values: 6.3, 6.7, 7.0, 7.2, 7.4, 7.5, 7.8, and 8.1 (potentiometer determinations). These were all inoculated with a susceptible strain of Bact. tumefaciens and except for controls with equal amounts of a potent bacteriophage, from a galled Beta root, with a history of five successive passages, each passage exhibiting good lysis. In each of the titrated media the bacteriophage was subjected to three passages. The results showed a somewhat stronger reaction in the moderately alkaline range (7.2—7.8) although good lytic reactions were observed throughout the whole series. Indeed the reaction at 6.3 was fully as striking as that at neutrality. Although readings were not taken of the pH subsequent to the inoculations, we know from the work of Brown and Quirk (7) that the medium be-

comes progressively more acid with the development of the bacteria, and accordingly this preliminary experiment shows clearly that bacteriophagy of Bact. tumefaciens may occur in a markedly acid range, i. e. within the range of the normal pH of plant tissues, and whether or not it differs from the action of the bacteriophages of animal source in this respect, there is no reason why pH relationships could exclude bacteriophage from consideration as a factor in plant disease, zoological findings notwithstanding. It is to be hoped that this matter will receive further critical attention.

C. Bacteria.

Turning now to the bacteria to be used we find that a number of conditions must be fulfilled in order to demonstrate bacteriophage. The bacteria must be in pure culture, free from contamination with bacteriophage, susceptible to the bacteriophage employed, in a physiological state conducive to lysis demonstration, they must be administered in suitable dosage, and they must continue their development at a rate compatible with lysis demonstration. For studies in vivo the bacteria must also be virulent in causing crown gall. If one of these factors be lacking a successful experiment will not result. The problem of the obtaining and employment of suitable bacteria under suitable conditions was a major handicap in the earlier part of the present study. One by one, however, the variables have been controlled.

To obtain bacteria in pure culture is no great problem to the bacteriologist and needs no comment. But pure culture in the sense of bacteriophagy requires further explanation, and may present a great obstacle to the student of bacteriophage. When this study was first undertaken a stock culture of Bact. tumefaciens isolated from Chrysanthemum was used Chrys. II b, Stapp). Later a second was added Chrys. II a, Stapp). In a series of inoculation experiments with Beta vulgaris and Pelargonium zonale performed by Doz. Dr. Max Eglits, Chrys. II a was shown to be weakly virulent, Chrys. II b strongly virulent in causing crown gall. From the first, the bacteriophage experiments performed with Chrys. IIb were beset with difficulties. A good difference between control tubes without bacteriophage inoculation and experimental tubes with bacteriophage inoculum could not be observed with any regularity. Often the control tubes showed a strong autolysis, either with or without repeated passages. After a few such experiments the suspicion was aroused that Chrys. II b contained a bacteriophage of weak virulence and that this was the explanation of the peculiar results obtained. Repeated passages failed markedly to increase the virulence of this associated bacteriophage, doubtless due to the stability of the long -continued association of bacteriophage with bacteria. Later experiments, when ultra-pure and susceptible bacteria were at last obtained, showed that this autolytic action was actually due to an associated bacteriophage, although one of weak virulence.

Such a strain of bacteria as Chrys. II b may be used in bacteriophage experiments, although not with complete success, since with repeated passages bacteriophages of plant source may attain sufficient virulence to cause appreciable difference between the experimental tubes (with highly virulent bacteriophage of plant origin + the weak "symbiotic" bacteriophage) and the control tubes (with only the bacteriophage of low virulence), but such experiments are not critical, and accordingly attempts were made

to secure bacteriophage-free bacterial isolations from C h r y s. II b. This was attempted by a series of mono-bacterial isolations (poured plates) with each isolation selecting the most vigorous colonies. Indeed, as D'H e r e l l e and P e y r e have noted, one observes in poured plate isolations from such a strain as C h r y s. II b two types of colonies, larger ,rapidly developing, non-viscous colonies, and smaller, more slowly growing, viscous colonies (not to be confused with the difference between rough and smooth colonies which may also be occurring). Thirteen such isolations were made, eleven of them from three successive reisolations, two from five reisolations. These thirteen strains were then cultured and studied. After repeated tests of various types (growth on agar, growth in bouillon with and without passages, filtration and treatment of ultra-pure, susceptible bacteria with the filtrates) it was finally conclusively seen that of these thirteen strains two were ultra-pure and possibly a third, while all the others, including the two with five reisolations, were still contaminated with bacteriophage. The contaminated strains included two which were rough and nine which were smooth, while the two ultra-pure strains were both smooth. Of these latter two, henceforth designated as "B" and "I", "B" was moderately but satisfactorily susceptible to bacteriophage, while "I" was only very weakly susceptible. All of the critical experiments reported in this paper were performed with strain "B". All of the thirteen strains showed some degree of susceptibility toward a virulent bacteriophage, but except in "B" and "I" the results were much less satisfactory of the weaker but constant lysis occurring in the controls. Strain C h r y s. II a, S t a p p was found to be similar to C h r y s. II b in presence of bacteriophage. That both of these strains actually did contain bacteriophage was proven by filtering three-day-old cultures and applying these filtrates to B a.c t. t u m e f a c i e n s "B", in which case a slight lysis was observed. The virulence of such bacteriophage is low, since "B" is strongly dissolved by various bacteriophages found in nature but only weakly so under corresponding conditions by filtrates of C h r y s. II a and II b. Of the other, contaminated isolations from II b, only "H", a rough, highly autolytic strain was tested for its lytic activity against "B", but here again a weak lysis was seen in "B" as a result of adding "H" filtrate, and since all of the other autolytic isolations behaved precisely as "H" in culture one is justified in assuming that they all contained bacteriophage.

In pure bouillon culture, without the addition of filtrate, it is relatively easy to observe the difference between ultra-pure strains such as "B" and "I" and contaminated strains such as C h r y s. II a, C h r y s. II b, and "H". In the former type the bacteria develop as an homogeneous turbidity, usually more or less concentrated at the free surface, often with a pellicle at this surface. The body of the culture, however, becomes daily more, and more cloudy, and there is no great amount of agglutination. In a contaminated strain, on the other hand, there are formed long, slimy threads of agglutinated bacteria, there is a steady precipitation of masses of agglutinated bacteria, the body of the culture becomes more or less clear, and a great amount of sediment accumulates at the bottom of the test-tube. Naturally when controls behave in this fashion it is difficult to demonstrate a stronger lysis in tubes containing bacteriophage filtrate.

Having now obtained a pure culture of B a c t. t u m e f a c i e n s which was free from associated bacteriophage yet susceptible to bacterio-

phage, the next step was to work out the appropriate conditions of culture, and dosage for bacteriophage demonstration. A number of solid media have been used for culturing Bact. tumefaciens, but of all attempted by far the most successful consisted of 2.5% agar dissolved in a fluid consisting of 20% raw potato juice and 80% distilled water. At room temperature a comparatively luxuriant growth of Bact. tumefaciens is obtained from streaked slants in 24 hours, and in all the routine work reported below this medium has been employed. Beside the advantage mentioned above, this medium is far more resistant to alteration by autoclaving than are the familiar potato-dextrose-peptone agars, and in addition the simple formula leads to less variability than results from the less favorable, and more easily altered formulae. The medium employed for bacterial culture may well play a part in the exhibition of lysis through its effect on the condition of the bacteria inoculated, but this point has not as yet been further investigated, since the dilute potato-juice agar has been so satisfactory.

The age of bacterial colonies on solid media has been discussed by the workers in the animal field as having an important effect on the strength of the lysis. As a measure of safety throughout the routine parts of this study bacteria from one-day-old agar slants were invariably used. But an experiment in this direction diverges from the empirical view that one should use very young colonies. In this experiment suspensions of bacteria of approximately equal concentrations were made from agar slants respectively 14, 10, 7, 4, 3, 2, and 1 day old. Five tubes each of bouillon were inoculated with five drops each of these suspensions, and two of each five were then treated with six drops of an active bacteriophage. Subsequent observations showed that the older slants were in every respect as satisfactory as the younger ones *provided the method of inoculation was as is here described.* At the same time bouillon cultures 10, 7, 4, 3, and 2 days old were used as sources of inoculum (not themselves to be inoculated), and here again there was no advantage derived by using the younger cultures. The method of inoculation used most successfully, as will be described immediately below, utilizes only a very small quantity of bacteria for the original inoculation, so small as to render the tubes only barely turbid. It apparently makes little difference whether these bacteria are from an old or a young colony; they are observed first after 24 hours, when one sees not the original bacteria but their descendants of many generations, and the slight difference in impetus of reproduction at first between old, and young colonies is compensated for in a few hours. If one inoculates with great quantities of bacteria, then naturally the older cultures contain more dead bacteria, and debris, and accordingly show less complete lysis, but experiments have shown that a practice of such heavy dosage is not favorable to bacteriophage demonstration.

The quantity of bacteria administered per tube is apparently one of the most important factors of all influencing the strength of the reaction. Slight variations in this factor may profoundly influence the success of the experiments. This fact has been arrived at from two angles. In the first place, it was observed in all experiments that if the quantity of bacteria was very accurately controlled but the quantity or strength of the bacteriophage only approximately controlled, the results were quite constant, while if conversely the quantity of bacteria was not absolutely strictly controlled,

the other factors being under accurate supervision, the results were often very inconsistent. In the second place, a carefully conducted experiment showed that the limits of bacterial dosage for the most favorable display of lysis are relatively narrow.

In the earlier experiments of the present study the bacterial dosage per tube of bouillon consisted of "a loopful" from an agar culture. Such a cookbook procedure could not long continue. To be sure, under such conditions lysis was often observed, but never with the strength, and constancy subsequently seen. A more precise technique soon became imperative, and the following was found to be entirely satisfactory. From a one-day-old agar culture a suspension of bacteria was so prepared that 1 cc. contained 700 million bacteria (the number being checked at first by counts, later by comparison with a mastic suspension of a turbidity corresponding to this concentration of bacteria). Three drops (in some experiments 5, 6, or 7) of this suspension were then used for the inoculation of each tube. Here as elsewhere throughout this paper "drop" always refers to the standard drop: $^1/_{20}$ cc. Accordingly the dosage arrived at was approximately 100 million bacteria per 10 cc. of bouillon. This is an extremely small dosage in comparison with the "loopful" method earlier employed, but it is very near to the optimum for bacteriophage demonstration as is shown by the following experiment.

A series of bouillon tubes and controls were prepared such that each of the experimental tubes contained 7 drops of a potent bacteriophage. For bacterial dosage of experimental and control tubes a normal suspension (700 million bacteria per cc.) was prepared and the series of tubes so inoculated that two tubes with bacteriophage and two without each received one drop of bacterial suspension (35 million bacteria), a second group of two experimental and two control tubes two drops each (70 million bacteria), etc. in a graded series up to one billion bacteria. All were subsequently daily observed for degree of lysis. The results of this experiment are to be seen in Table 1.

Table 1. Variation of strength of bacteriophagy with variation of amount of bacterial inoculum.
Further explanation in the text.

	Number of millions of bacteria inoculated per tube:										
	35	70	105	140	175	245	350	525	700	875	1050
Day of observation 1...	+	+	+	+	++	++	+	0	0	0	0
2...	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
3...	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
4...	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5...	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6...	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7...	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

The strength of each reaction was calculated from a comparison with a series of mastic suspensions, as will be explained below. A weak but positive lysis (i. e. difference between control and experimental tubes) is represented by +, a stronger reaction by ++, a maximum lysis by +++, no lysis by 0. The decrease in strength of lysis after five to seven days is due to the secondary development of bacteriophage-resistant bacteria in the tubes.

It is seen that in this experiment the optimum dosage of bacteria lies between 175 and 245 millions of bacteria per 10 cc. of bouillon, which is not widely removed from the 3-drop inoculations arbitrarily selected for the routine experiments reported below. It is only in the earlier days of observation that this optimum is most apparent, but these earlier days are far more important than the later ones because the reactions are stronger then, and also because it is in the first days that one must make selections of tubes for filtration for later passages. It must be strongly urged that while the theory of this weak dosage should be applicable under other conditions, these findings are of direct value only for Bact. tumefaciens and only under the other experimental conditions here described.

A final property of the bacteria of great importance in determining the occurrence and strength of bacteriophage lysis is a complex property related to temperature, nature of medium, nature of bacteria, potency of bacteriophage, and other factors, namely the rate of development of the bacteria in the medium used for bacteriophage demonstration. The rate of growth can be studied by varying the composition of the medium. It is very difficult to study the effect of the growth rate without varying at the same time other factors, as for example the direct influence on the bacteriophage, but one can get some picture of the effect of growth rate by observing the effect of the variation of numerous variables which may affect the bacteriophage in different ways but which all affect the bacteria in the same way.

The numerous media tested for their value in bacteriophage have differed profoundly in their effect on bacterial growth. Glucose was observed to slow down bacterial development in proportion to its concentration in the medium, and likewise peptone had a similar though less striking effect. In pure and diluted potato juice there was seen a very clear series from poor growth in 100% potato sap to excellent growth in 10% or 20% potato juice. These latter proved by far the best, of all the media tested, for bacterial growth, but not for bacteriophagy. The same situation was seen in the bouillon series in which a greater or smaller amount of peptone was used. Using 1% peptone bacterial growth was weaker than when one used no peptone at all, but lysis was stronger in the peptone bouillon. The explanation appears to be as follows: In the course of normal bacteriophagy several stages may be recognized, a first stage of approximately 12 hours duration (room temperature) during which no lysis is evident, a second stage lasting a day or two in which the experimental tubes are almost water-clear while the control tubes are progressively more and more turbid, a third stage from approximately the third to the sixth day in which there is still a strong difference between the slightly turbid experimental tubes and the strongly turbid control tubes, and a fourth stage in which, due to the development of bacteriophage-resistant bacteria in the experimental tubes these become nearly or quite as turbid as the controls (7th to 10th days). If a medium is used which is highly favorable to bacterial growth the period of strong lysis is contracted and confined to the first day or two of the experiment; secondary growth early becomes evident, and the whole manifestation of lysis is over before the bacteriophage has had an opportunity to display itself to best advantage. If, on the other hand, a medium is used which is not sufficiently favorable for reasonable bacterial growth, lysis occurs, but since lysis is expressed as the difference in turbidity between a bacteriophage-containing bacterial culture and a bacteriophage-free culture, and

since the latter becomes turbid but very slowly, the difference is never great before secondary growth begins in the experimental tubes. The optimum thus lies at a medium point with reference to bacterial growth, and this optimum is realized in the potato-juice series of media by using a juice of relatively high concentration (50%) or better in the bouillon series by adding a small amount of (inhibitory) peptone, as 0.25%.

D. Bacteriophage inoculum.

Just as one could outline a set of requisite conditions which determine whether bacteria will or will not show lysis in the presence of a virulent bacteriophage, so one may enumerate the conditions requisite on the part of the bacteriophage. In order that the filtrate inoculum produce significant liysis, other conditions being favorable, the filtrate must contain bacteriophage, the bacteriophage must be virulent against the bacteria employed, the bacteriophage must be introduced in sufficient quantity to cause lysis, the filtrate must be free from contamination with any bacteria, the medium containing the bacteriophage must not of itself cause inhibition or stimulation of bacterial growth, and possibly the period between filtration and inoculation must not be too great. Failure to satisfy these conditions will result in a disturbance or failure in experimentation. Accordingly they will be successively considered.

In order first to isolate a bacteriophage from a plant tissue suspected of harboring bacteriophage, several techniques have been employed in the course of this study. At first the sap was expressed from sugar-beet roots and this filtered sap used for the first inoculum of series of passages. This method, however, ist not suitable for tissues less rich in sap and has other disadvantages as well. A second technique was to crush the tissues in a mortar with the addition of sterile water or bouillon, filtering at once or after a few hours, and using this filtrate as the first inoculum. Neither of these first two techniques proved as satisfactory as a third which has been devised, since with such techniques a small amount of bacteriophage may be lost, ultra-filtration is difficult, and the original inoculum is so different in chemical composition from the bouillon used in testing lysis that non-lytic stimulation or retardation of bacterial growth may lead to a false appearance of lysis or hide a real bacteriophage reaction. The method used most successfully is as follows. The tissues to be tested are washed free from adhering foreign matter, surface-sterilized by flaming thoroughly the outer surface in a Bunsen flame, cut open with a sterile knife, and a portion cut from the center of the piece is placed in a sterile mortar. To this is immediately added 10 cc. of standard bouillon containing a suspension of a few hundred million bacteria of the same strain as is to be later used in the passages. The tissue is then macerated in the bacterial suspension, the pulp and fluid poured into a sterile test tube, and permitted to incubate three days.' Since bacteriophage develops only in the presence of living bacteria such a technique should cause sufficient multiplication of a trace of bacteriophage that in subsequent filtration and inoculation there would be no danger of loss of a weak bacteriophage. Indeed in the present study significant and frequent isolations of bacteriophage from sugar beet and Pelargonium resulted only after the adoption of this technique. Thorough surface sterilization and sterility throughout the processes are imperative because of the danger of introducing bacteriophage from soil or

other foreign matter. Flaming is considered superior to the use of chemicals in this connection because it may be made very thorough without injuring the inner tissues, and because of the danger with chemical disinfectants that the poison might not all be removed in washing, with a possible subsequent inhibition of bacteria or bacteriophage.

A second requisite of the bacteriophage is that it must be virulent against the strain of bacteria employed. No work has been done in the present study on the question of specificity. From the accumulated data of other investigators, however, one may briefly say that the present conception is that a bacteriophage developed in connection with a given strain of bacteria usually shows a tendency to react more strongly on that bacterial strain than on other strains of species, but that a bacteriophage virulent toward one bacterium but not toward a second may usually be made virulent toward the second by repeated passages through the latter. It is the conception of many investigators, but not all, that bacteriophage is a living organism consisting of a single ultimate species, the many strains of varied virulence being merely physiological variants of this primitive species, and that any bacteriophage has the capacity to attack any bacterium, this capacity being developed through repeated passages. In the present study bacteriophage virulent against Bact. tumefaciens after several passages has been repeatedly isolated from healthy sugar beets which presumably have had no biological relationship with Bact. tumefaciens, and it would be difficult to conceive of any reason why a specific bacteriophage for Bact. tumefaciens should be present in such tissues. These healthy sugar beets and many others had been grown in a soil quite free from the crown gall organism if one may judge from the absence of natural infection. The only conclusions which one may draw from such a situation are that in attempting to isolate a bacteriophage from a tissue or soil one must resort to a series of passages so devised as to give every opportunity for the development of specificity and virulence toward the bacterium employed, and that in testing a filtrate from one bacterial culture against a second bacterial strain a negative result may not mean absence of bacteriophage, but may rather mean weakness of virulence, which should be strengthened by several passages.

Passing to the third criterion of a successful bacteriophage, namely the amount which must be administered in order to produce lysis, we have a complex factor and one of great importance. Two elements are concerned here, the number of bacteriophage corpuscles per unit volume of filtrate and the virulence of these corpuscles. The virulence is expressed by the maximum degree of lysis resulting, the quantity by the maximum degree of dilution possible without complete loss of lytic effect. The routine technique employed in the present study, after tests of greater and smaller amounts of bacteriophage, has been to add in the first passage ½—1 cc. of filtrate, in subsequent passages 0.35 cc. (7 drops) per 10 cc. of bacterial suspension containing 100 million bacteria. This is a somewhat arbitrary quantity but has proved satisfactory. The filtrate from a standard Silberschmidt candle is usually more than enough so to inoculate five tubes (three experimental, two controls). To use more may considerably increase the time for filtration and has no great advantage in strength of reaction; to use less delays the appearance of the reaction. The bacteriophage strains isolated in this study have usually had a titer of from 10^{-6}

to 10^{-10} after three to six passages. Actually one need add in such a case only one millionth of a cc. of the filtrate to cause a reaction, but the reaction under such conditions is delayed in appearing, becoming obvious only on the fourth or fifth day after inoculation. Meanwhile the bacteria have been steadily increasing in number, and when the reaction does appear it is not always as complete as with the stronger dosages of bacteriophage because of this excessive amount of bacteria. The typical situation with progressive dilution is well shown in the following data sheet of the Applemann technique (Table 2).

Table 2. Applemann titer determination on the fourth passage of a bacteriophage isolated from the healthy portion of a Pelargonium stem bearing a crown gall. Discussion in the text. Symbols as in Table 1.

	Dilution of bacteriophage inoculum:										Bacterial-control[1])
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10} [1])	
Day of observation 2. . .	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	1
3. . .	+	+	++	++	++	++	++	+	0	0	1 +
4. . .	0	+	+	+	+	+	++	++	0	0	1 +
5. . .	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	2
6. . .	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	2
7. . .	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	3

[1]) Turbidity of bacterial controls as determined from standard mastic suspensions.

This experiment was performed on the third day of the fourth passage of a bacteriophage isolated from the healthy part of a crown-galled geranium stem. The strength of reaction (+, ++, etc.) was computed as the difference between the turbidity values of experimental tubes and bacterial controls as measured in comparison with mastic turbidity standards. The first day the lysis was so weak as not to be scoreable. The second day a good lysis was observed through dilution 10^{-5} and a weaker lysis in dilution 10^{-6}; 10^{-7} and 10^{-8} were negative. As is seen on the following days 10^{-7} and 10^{-8} both contained bacteriophage (10^{-7} containing 10—100 bacteriophage corpuscles, 10^{-8} containig 1—10 corpuscles per tube) but in 48 hours at room temperature these had not sufficiently multiplied to effect a scoreable lysis. The third day lysis was observable in these higher dilutions, but the maximum lysis was not attained in 10^{-8} until the fourth day. In this case the maximum lysis with the highest active dilution was as strong as the maximum lysis with the stronger concentrations, but such is not always the case. Meanwhile the reaction had begun to weaken in the higher concentrations of bacteriophage. This was due to the secondary growth of resistant strains of bacteria, a process which begins first in the tubes containing the higher concentrations of bacteriophage because in these tubes the lysis occurs early, killing the susceptible bacteria and favoring the development of the non-susceptible variants. Gradually this secondary development obscured the lysis in the tubes containing the weaker concentrations of bacteriophage until at the seventh day a weak lysis was seen only in 10^{-6}, 10^{-7}, and 10^{-8}.

The quantity of bacteriophage employed in the routine technique of the present study (0.35 cc. per 10 cc. bouillon) is a quantity lying between the dilutions 10^{-1} and 10^{-2}. Using such a quantity of bacteriophage the

maximum reaction almost invariably occurs on the second day, once a bacteriophage has become reasonably potent. Use of so much as 1 or 2 cc. bacteriophage per 10 cc. medium has been experimentally tested. With such strong concentrations, to be sure, the reaction is somewhat more rapid and striking, but the advantage gained is not compensatory for the difficulty of securing so much filtrate and the danger of adversely influencing the results by the addition of 10% or 20% of a foreign medium of a different pH than the standard medium and containing appreciable quantities of the products of bacterial metabolism from the preceding passage.

The fourth point of concern in obtaining a satisfactory bacteriophage is that it must be free from contamination by bacteria or fungi. The standard Silberschmidt candles as they come from the factory have never been found to "leak" bacteria. Contaminations have been frequently experienced (in approximately 10% of 2000 filtrations) but these were almost always due either to a crack in the filter resulting from the cleaning process or to carelessness in filling the filters. It is interesting to note that with but four or five exceptions in 2000 filtrations the contaminant was always Bacterium tumefaciens. The technique described is thus practically 100 proof against the ordinary laboratory weeds. But the Bact. tumefaciens contaminations are always the most insidious and dangerous, because the filtrations are of tubes in which secondary growth of resistant bacteria has started. The contaminating bacteria are thus more or less highly resistant to the bacteriophage, although indistinguishable in gross from the stock suspensions of Bact. tumefaciens, and they may partially or completely obscure the lytic reaction. In each routine experiment performed in this study there were always two tubes reserved for inoculation with each filtrate, without bacteria, as a check on filtrate contamination, and passages in wich these controls showed turbidity after 2—3 days were not considered significant. However, in no case in which an active bacteriophage experienced a passage with contaminated filtrate was there an appreciable decrease of lytic strength with the following passage.

A fifth point of concern in the use of the bacteriophage is the effect of the medium containing the bacteriophage on the bacteria. After the second passage this medium for all practical purposes contains as foreign inclusions beside the bacteriophage only the products of metabolism of the preceding passage. The effect of 7 drops of such metabolism products in 10 cc. of bouillon in accelerating or retarding bacterial growth under the other experimental conditions outlined in this section is practically nil. However, for every series of bacteriophage passages there must be an equivalent control series of passages starting with filtrate from a pure bacterial culture, in order to have always at hand a guard against such an effect of metabolic products. In the numerous control passages of this type performed in this study there has never been observed, with bacteriophage-free bacteria, any significant difference between the tubes containing only bacteria and those containing bacteria + 7 drops of a filtrate containing the metabolic products of the preceeding passages but no bacteriophage. However, such controls must always be employed. The first passage is often significantly different from later passages in this connection. The experimental tubes of the first passage each contain ½—1 cc. of an ultra-filtrate from a mixture of plant tissue, bacteria, and bouillon, and the concentration of the products from the tissue is often sufficiently great to cause a signi-

ficant acceleration or retardation of bacterial growth in the first passage. This cannot be eliminated, and accordingly it has been the practice in this study never to consider the observations of the first passage as significant. In the second passage the concentration of such foreign matter has become 1 : 1000 or less, and this has never been observed to be great enough to cause a significant distortion of the experimental results; the second passage and succeeding ones can thus be considered significant.

A final point of possible importance in connection with the bacteriophage is the length of time ensuing between filtration and introduction of the filtrate into the tubes of the next passage. No controlled experiments on this matter have been performed in this study, but certain incidental observations bearing on this topic have been made. In all the routine work reported here the interval between filtration and inoculation has never been more than ½ hour, — usually only a matter of a few minutes. In certain types of experimentation, however, the necessity arose of allowing bacteriophage-containing filtrates to stand as much as 3—4 hours at room temperature before being used. In one or two such cases a marked loss of virulence was seen in the following passages. The lapse of time may or may not have been responsible. Other factors may have entered in. *A priori* one would not expect loss of virulence under such conditions, but in any case here is a point worthy of attention in the future.

E. Procedure.

Having discussed the optima for successful bacteriophage demonstration in relation to apparatus, medium, bacteria, and bacteriophage filtrate, we must now briefly consider the numerous variables in the actual procedure which may favorably or adversely affect the experimental results. Outstanding among these variables are the selection, and use of controls, the period of time between observations, the duration of the observation period, the length of time between passages, the number of passages employed, the temperature, and the method of evaluating results, and each of these variables will accordingly be discussed in turn.

The writer has frequently been asked by colleagues: "But how can you be *sure* that you are dealing with bacteriophage?" One can be sure; this certainty results from several sources: (1) a complete and carefully executed system of controls, (2) observation of the effects of bacteriophage on solid media and in dilution series, and (3) persistence of the reaction through many successive passages. But the most important of these is the control system. For a complete control system in bacteriophage passages the following types of culture tubes are essential:

a) *Experimental tubes*: Containing 10 cc. standard bouillon + 100 million bacteria + 0,35 cc. bacteriophage filtrate.

b) *Bacterial controls*: Containing 10 cc. standard bouillon + 100 million bacteria.

c) *Filtrate controls*: Containing 10 cc. standard bouillon + 0,35 cc. bacteriophage filtrate.

d) *Medium controls*: Containing 10 cc. standard bouillon.

e) *Controls of the influence of products of metabolism of the previous passage and also to eliminate the possibility of the presence*

of a "symbiotic" bacteriophage in association with the bacteria: Containing 10 cc. standard bouillon + 100 million bacteria + 0,35 cc. filtrate from the preceding passage, this set of controls having passed through as many successive passages as the experimental tubes with the only difference that no bacteriophage was added on the first passage.

f) Filtrate controls of "e": Containing 10 cc. standard bouillon + 100 million bacteria + 0,35 cc. of the same filtrate as was used in inoculation "e".

It is self-evident that the same lot of medium must be used in all types of tubes of a given experiment, that the same bacterial suspension must be used for all bacterial inoculations, and that the amounts of bacteria and bacteriophage must be accurately measured. Measurement of the bacterial amount is relatively easy by using the same number of drops of suspension from the same pipette for each inoculation.

In order that a passage be considered significant tubes c, d, and f must be identical and perfectly water-clear, tubes b, and e must be identical, and reasonably turbid, and all of the tubes of any one type must be identical in appearance. In order to make assurance doubly sure, throughout all the routine experiments here reported the critical comparison for lysis detection was always made between tubes a and e, not between a and b. This adds a very significant strength to the value of the observations.

In routine bacteriophage passages the following scheme was customarily used. Of a: 3—4 tubes, b: 3—4 tubes, c: 2 tubes, d: 2 tubes, e: 3—4 tubes, f: 2 tubes. Of a, and e each a tube was withdrawn for the following passage before the period of observation was completed, hence the extra tubes. A great advantage is to be derived by performing many experiments at one time, namely that controls b, d, e, and f will suffice for a long series of experimental tubes with their filtrate controls. For this reason as well as for greater constancy in results it has been customary in this work to perform 20—25 experiments simultaneously.

Such a system of controls is absolutely necessary for significant results. No type can be neglected. Had this fact been realized by some of the earlier workers in this field we might have been spared some of the curiously conflicting results on record.

Having successfully carried out the planning of controls, filtrations, and inoculations, the next step in the procedure to consider is the length of time before and between observations. With the technique as described above, using a potent bacteriophage, no good lysis is usually observable in less than 24 hours after inoculation. The maximum reaction is almost always seen at 48 hours. The third day a good reaction is usually still in evidence, and the results of the fourth day's readings are scoreable, although not usually strong. After this time the reaction tends to disappear with the secondary growth of resistant bacteria in the experimental tubes. Accordingly, for ordinary work with the technique here described four observations at 24, 48, 72, and 96 hours after inoculation should suffice. Occasionally, with special types of experimentation, it is desirable to continue daily readings up to the 7th or 8th day or longer. In no case in the present study, however did a reaction first appear after the 4th day of observation. While considering this question of the time of observation, attention should be called to one very important danger of error. The readings, in particular

those of the first day, must be made after exactly 24 hours. If an experiment is performed in the afternoon the readings must be made the following afternoon at approximately the same time, not the following morning. Looseness in this particular has been seen to lead to gross errors in the observations of the first day.

Turning now to the length of time between passages, this is an important feature of the procedure and one which has received little attention on the plant side. In the study of bacteriophage in animals, the cultures are usually incubated at blood temperature, 37° C., and passages performed at least once in 24 hours, preferably twice in this time. Brown and Quirk (7) in experiments with Bact. tumefaciens at 24—28° C. employed as many as 3 passages in 8 hours. Reasoning from the results of the experiments with animal bacteriophage, and from the loose approximate rule that physiological activity doubles with a 10° rise in temperature, the first experiments performed in this study involved passages 48 hours apart. This is a satisfactory but not an ideal interval. Later 24 hour passages were employed, but they proved less satisfactory than the 48 hour passages. In the course of the 48 hour experiments certain cultures were neglected for 96 hours and then filtered. The results were very surprising: these old cultures showed a marked increase in potency following the 4-day lapse. Three-day and four-day passages were then tried in the routine experiments and both found to be very successful, with little choice between the three and four day intervals. Accordingly in the later experiments 3-day passages have been used exclusively except for the carrying along of old stock cultures of bacteriophage, where 4-day passages were often used with complete success. Lest this interval seem much too long to those familiar with bacteriophage from the animal side, it must be remembered that these experiments have been performed at 20° C., that Bact. tumefaciens develops very slowly in most media, and that for these experiments a medium was deliberately chosen which retards the growth of the bacteria. All of these factors tend to lengthen the period necessary for the development of bacteriophage.

A further question of importance in connection with the schedule of passages is that of the number of passages requisite to demonstrate such bacteriophage as may have been in the original inoculum. Brown and Quirk (7) came to the conclusion that unless a bacteriophage appears in the earlier passages there is little chance of demonstrating it later i. e. with a suitable technique a few passages should suffice to bring out any bacteriophage present in the plant tissues. In the first experiments of this study, lacking more specific data on this point, the negative experiments were continued to twelve or in some cases as many as twenty passages. In no case did a bacteriophage make its appearance in the later passages. In the subsequent and more significant experiments, however, the minimum number of passages was limited to six. May one be satisfied with as few passages as six for the demonstration of the occurrence of bacteriophage? The experimental results speak for themselves. In the course of this study bacteriophage has been isolated 50 times. Of these 50 bacteriophage isolations 33 (66%) appeared in the first and second passages, 9 (18%) in the third passage, 7 (14%) in the fourth passage, 1 (2%) in the fifth passage, and none in the sixth passage. The technique of original incubation of bacteriophage with susceptible bacteria prior to passage number 1 may in itself

be considered a passage, in which case the total number in these experiments is seven. In any case the figures show that the chances of first demonstrating a bacteriophage after the sixth passage are practically nil, and for all ordinary purposes the limitation to six passages is accordingly justified and sufficient.

All the experiments reported in this paper except for a few unsatisfactory preliminary ones were performed at room temperature (19° C. ±). This was not thermostatically controlled. To vary the temperature would probably mean variation of many of the other factors of technique, so closely are these interwoven. Room temperature was chosen in preference to a higher temperature in order to simultate in this respect the conditions under which bacteriophage must propagate in nature, and the satisfactory results obtained at room temperature further the view the reaction in vitro may be functional in the living plant. Careful studies of the effect of temperature on the bacteriophage of plant origin would be of great interest and aid in the problem at hand.

F. Evaluation of results.

In concluding this discussion of procedure we come finally to a very important matter, namely the method of evaluating observations. Numerous methods have been suggested for evaluating the strength of lytic reactions, but most such methods have great disadvantages for the present purpose. Obviously the unaided eye is not enough. But a technique of observation for routine bacteriophage work must be relatively simple and rapid, must be capable of being applied without disturbing the contents of the test tubes, and must be reasonably accurate without being so highly sensitive as to record differences due to slight, non-significant variables. To meet this need a method has been devised for routine work and is accordingly described. It is not exact in the sense of the nephelometer, but it is entirely serviceable.

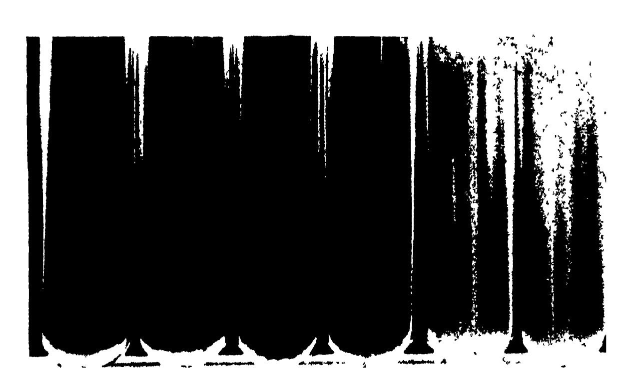
2 gms. of mastic beads are dissolved in 100 cc. absolute alcohol. The cloudy solution is quickly filtered. Of this 2% stock solution various amounts are added to measured amounts of a pale yellow solution of methyl-orange or orange-G in distilled water, made to resemble as closely as possible the color of standard bouillon. The series of dilutions chosen may be seen in Table 3.

Table 3. Calibration of standard mastic test suspensions. Explanation in the text.

Number of cc. of stock solution per 100 cc. colored water:	Test solution number:	Equivalent no. of millions of bacteria/cc. when test sol. is viewed by transmitted light:	Equivalent no. of millions of bacteria / cc. when test sol. is viewed by reflected light:
0.0	0	0	0
2.5	1 —	50	30
4.0	1	75	50
6.0	1 +	125	100
8.0	2	175	200
10.0	2 +	225	500
14.0	3	500	3000
20.0	4	∞	∞

In the first column is seen the concentration of mastic stock in each member of the turbidity series. The second column gives the arbitrary numbers assigned to these turbidity standards for convenience in scoring. In the third and fourth columns are respectively the concentrations of bacteria found to correspond to the mastic turbidities when the latter were viewed by transmitted and reflected light respectively. These last two columns were obtained by making up series of bacterial suspensions of turbidities equal to those of the various mastic suspensions, and then checking the bacterial numbers by dilution counts.

The mastic suspensions are easily prepared, and in sealed test-tubes retain their effectiveness for one or more weeks without serious alteration, although there is eventually a slow precipitation. The mastic standards are not perfectly comparable with suspensions of Bact. tumefaciens because of the fluorescence of the former. It is this fluorescence which leads to the high equivalent bacterial counts by reflected light at the higher concentrations of mastic. Nearly all of the observations involved in the routine work of this paper, however, lay in the range between test suspension numbers 0 and 2, and in this range, particularly with transmitted light, the system is highly helpful. In the most critical experiments transmitted light was used because of its greater accuracy, in the routine experiments reflected light because of its greater convenience. If one plots these values it is seen that by transmitted light the relation of number of bacteria to concentration of mastic is practically linear up to the value 2 +, after which the curve sweeps sharply upward; with reflected light the sharp upward trend comes between 1 + and 2.



Figur 1. Bacteriophagy in Bact. tumefaciens. Explanation in the text.

In the tables in this paper a lytic reaction is frequently expressed as +, ++, etc. A + indicates that there was one unit difference between experimental tubes and bacterial controls in the test-suspension scale, ++ signifies two units difference, etc. By comparing with the value of the bacterial control, expressed as a test solution number (as in Table 2) one can tell at once the reading of the experimental tube.

As was also the experience of Brown and Quirk (7) complete lysis in the sense that all the bacteria are killed was never observed in the course of this study. Often the cultures on the first and second days after inoculation would appear essentially water-clear, but a secondary growth of resistant bacteria invariably occurred showing that all the bacteria had not been killed. This is doubtless more marked in the bacterial strain of only moderate susceptibility here employed than in other, less resistant strains. In any case, however, the reactions were customarily so striking that once

bacteriophage had appeared there was absolutely no question of the reaction. A good typical reaction is shown in Text-figure 1.

This is a photograph of the reaction of a bacteriophage isolated from the healthy portion of a Pelargonium stem bearing a crown gall, on the third day of the twelfth passage. The two tubes at the right contain only bacteria and medium, the two at the left only bacteriophage and medium, the two in the center contained at the time of inoculation as many bacteria as the two right-hand tubes, but in addition 7 drops of bacteriophage. All the tubes were subjected to exactly the same care. As is seen from the photograph the tubes containing bacteria alone are highly turbid, while those containing in addition a small amount of bacteriophage have become virtually water-clear.

G. Determination of titer

One other feature of bacteriophage technique deserves a word of attention, namely the determination of the titer (number of bacteriophage corpuscles per unit volume of filtrate). Two methods are available, the "tache vierge" method of D'Herelle which consists of pouring or smearing a series of petri-plates of agar with an abundance of bacteria and to each member of the series adding a measured drop of bacteriophage at dilutions of 10^{-1} to 10^{-12}, and the technique of Applemann of inoculating a series of test-tubes of liquid medium with bacteria and to each of the series adding a measured amount of bacteriophage in similar dilutions. In D'Herelle's method the titer can be computed from the number of "phaged" spots, plaques, or "taches vierges" appearing on the plate with the highest effective dilution, in Applemann's method the titer is computed from the dilution in the last tube showing lysis. D'Herelle's method is theoretically more accurate since Applemann's titer lies in a range of accuracy between one and ten times the computed value. With Bact. tumefaciens, however, although Brown and Quirk (7) report and illustrate successful application of D'Herelle's method, in the present study it has not proved entirely satisfactory on account of the extremely small size of the "taches vierges" (of the order of 1 mm. in diameter), although these were plainly seen, as were the abnormal, partially "phaged" colonies reported in this type of work. Applemann's technique, on the other hand, proved entirely satisfactory (see Table II and discussion), and furthermore it is possible, by multiplying the number of tubes in the vicinity of the suspected dilution limit to obtain values as accurate as those otainable with the method of "taches vierges". It is entirely possible that by substituting a different solid medium for the D'Herelle method than the 20% potato sap agar which was used in this study, larger and more satisfactory "taches vierges" may be obtained.

In concluding the present section on technique it should be emphatically urged that although the techniques described are long and exacting it is only by minute attention to the many variables here considered that one can arrive at accurate results in bacteriophage investigation. Loose approximations are permissable at no step in the procedure. The techniques here described apply in the main to one strain of Bact. tumefaciens, a strain of moderate susceptibility to bacteriophage. In dealing with other bacterial races and species, the details of the technique will doubtless require modification, particularly from the point of view of the rapidity of

bacterial development, which is much slower in B. tumefaciens than in many other phytopathogenic bacteria. But the broad outlines of the technique should apply in all similar studies, and as a significant test of the techniques described it may be borne in mind that these techniques have been employed in the present study in several thousand inoculations with perfectly consistent results throughout. The 50 bacteriophage strains isolated have been subjected collectively to a total of 275 passages with at the most no more than a very occasional minor fluctuation of reaction in a single passage, restored in the following passage.

IV. The occurrence of bacteriophage in tissues of Pelargonium and Beta.

Having reviewed the technique of bacteriophage investigation in plants in the detail required by its complexity and misunderstandig, we are now in a position to proceed to an account of the actual experimental findings of the present study. The experimental work was primarily concerned in investigations of the occurrence of bacteriophage in plant tissues. The plants chosen for this purpose were Pelargonium zonale and Beta vulgaris, a quantity of each of which had been previously inoculated with Bact. tumefaciens (strains: Stapp, Chrys. II a and Chrys. II b) and at the commencement of this study were displaying in many cases well developed crown galls. Three types of tissue of each species were selected for testing, namely the tissues of the galls themselves, the healthy tissues (roots of Beta, stems of Pelargonium) of galled plants, and corresponding tissues of healthy plants which had never been subjected to infection by Bact. tumefaciens. There were thus six categories of tissue to be tested. In the critical tests, those yielding results which can unquestionably be considered as significant, 20 specimens, exclusive of controls, of each category of tissue were tested, a total of 120 tissues. The total number of tissues actually tested was 200, but 80 of these must be classed as preliminary and not of the significance of the latter 120 because of the development of technique and the discovery of sources of error in the earlier part of the work. It is to be regretted that number of significant tests could not have been extended, but this proved impossible in the time permitted for these investigations, since it must be remembered that one test involves at least 6 ultra-filtrations, from 30 to 50 inoculations, and from 120 to 200 observations, extending over a period of three weeks.

Although the first 80 tests cannot be considered as critical, they deserve a word of comment. These 80 tests included 36 of Beta crown galls, 26 of healthy parts of galled Beta roots, 3 of healthy Beta roots, 6 of Pelargonium galls, 6 of healthy parts of galled Pelargonium stems, 2 of healthy Pelargonium stems, and 2 of Pelargonium stams which were decayed as a result of infection with Botrytis sp. Of all these tests only 6 bona fide isolations of bacteriophage resulted, 2 from the Beta galls, and 4 (3 of which were from the same plant) of the healthy parts of galled Beta roots. The many negative tests, however, cannot be considered as indicating absence of bacteriophage in these tissues, because of the relatively high percentage of bacteriophage isolations later resulting from tests of the same types of tissue but using improved techniques. The chief causes for failure in these earlier experiments were, in order of their importance:

1. Use of a strain of Bact. tumefaciens already containing a weak bacteriophage.

2. Excessive amounts of bacteria in inoculations.

3. Employment of a medium (potato juice) which because of its dark color made observation difficult.

4. Employment of a method for the original culture of the bacteriophage which was not favorable to securing a weak bacteriophage or one present in the tissues in small quantity.

5. Failure to control accurately the amount of bacteria, amount of bacteriophage, and amount of medium.

Table 4. Isolations of bacteriophage from tissues of Pelargonium zonale. Explanation in the text.

	Pelargonium. Bacteriophage inoculum isolated from tissues of:																				
	Gall							Healthy part of galled stem							Healthy plant						
	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6
Control:	204	0	0	0	0	0	0	113	0	0	0	0	0	0	90	0	0	0	0	0	0
	205	0	0	0	++	++	++	114	0	0	0	0	0	0	91	0	0	0	0	0	0
	206	0	0	0	0	0	0	115	0	++	++	++	++	++	92	0	0	0	0	0	0
	207	0	0	0	++	++	++	116	0	0	0	0	0	0	93	0	0	0	0	0	0
	208	0	0	0	0	0	0	117	0	++	++	++	++	++	94	0	0	0	0	0	0
	209	0	0	0	0	0	0	118	0	0	0	0	0	0	95	0	0	0	0	0	0
	210	0	0	0	0	0	0	119	0	++	++	++	++	++	96	0	0	0	0	0	0
	211	0	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	97	0	0	0	0	0	0
	212	0	0	0	0	0	0	121	0	0	0	0	0	0	98	0	0	0	0	0	0
	213	0	0	0	+	++	++	122	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0
Experimental:	214	0	0	0	0	0	0	123	0	+	++	++	++	++	100	0	0	0	0	0	0
	215	0	0	0	0	0	0	124	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	0	0
	216	0	+	++	++	++	++	125	0	0	0	0	0	0	102	0	0	0	0	0	0
	217	0	0	0	++	++	++	126	0	+	0	0	0	0	103	0	0	0	0	0	0
	218	0	0	0	0	0	0	127	0	0	0	0	0	0	104	0	0	0	0	0	0
	219	0	0	0	++	++	++	128	0	++	++	++	++	++	105	0	0	0	0	0	0
	220	0	0	0	0	0	0	129	0	++	++	++	++	++	106	0	0	0	0	0	0
	221	0	0	++	++	++	++	130	0	0	0	0	0	0	107	0	0	0	0	0	0
	222	0	0	0	0	0	0	131	0	0	0	0	0	0	108	0	0	0	0	0	0
	223	0	0	0	0	0	0	132	0	0	0	0	0	0	109	0	0	0	0	0	0
	224	0	0	0	++	++	++	133	0	0	0	0	0	0	110	0	0	0	0	0	0
% of tissues tested yielding phage:	40							30							0						

Continuation of certain of the series of passages commenced above:

	Passage (continued from above): 7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Experiment 115 .	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
Experiment 123 .	++	++	++	++	+	++	++	++	++				
Experiment 128 .	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

The preliminary tests also included three tests of well fertilized garden soil, all of which proved negative, although not necessarily significantly

so. The positive results secured with Beta can be considered as of some weight, however, showing in an exploratory way that crown galls may contain bacteriophage, as has been shown by certain other workers, and that healthy parts of crown-galled plants may contain bacteriophage, which has not been previously reported.

The 120 critical tests were performed in 6 groups of 20 similar tissues each, each group containing in addition a control experiment subjected to similar passages but lacking the original bacteriophage inoculation. In no case was there any evidence of lysis in these control experiments, the only recognized change in procedure during the course of these experiments being a change from 2-day to 3-day passages, a minor change which led to a slight increase in potency but not to any significant alteration in the demonstration of the occurrence of bacteriophage. All were performed in neutral bouillon, at room temperature, using bacterial strain "B" (bacteriophage-free, moderately bacteriophage-susceptible) as an indicator. The results of these tests are given in Tables 4 and 5.

Considering first the results with Pelargonium (Table 4) a number of interesting points are evident. In the first place, these critical tests confirm the exploratory tests and those of other workers [Israilsky (11,12), Brown and Quirk (7), Muncie and Patel (20)] in demonstrating that crown galls of plants may contain bacteriophage. Kauffmann (15) failed to find bacteriophage in crown galls of sunflower and sugar beet, but this may represent no discrepancy with the findings here reported, since Kauffmann had inoculated with a strain of Bact. tumefaciens of attested freedom from bacteriophage, while the galls here investigated were produced by inoculation of beets with two strains of Bact. tumefaciens both containing bacteriophage of weak virulence.

The second point of interest is that the healthy stems of galled Pelargonium may also harbor bacteriophage in a considerable number of cases. This is here reported for the first time. No bacteriophage was demonstrated in healthy, non-infected Pelargonium, which is in accordance with the findings of workers with certain other plants [Mallmann with healthy cabbage (17), Bewley with healthy tomato (4,5), Israilsky with healthy Beta (12)]. The bacteriophage demonstrated in the Pelargonium galls and in the healthy tissues of galled plants thus appears to bear a definite relationship to the crown gall disease, — it is present only in company with the disease. Since the strain of bacteria used in the original inoculations contained a bacteriophage of weak virulence, and since bacteriophage is later found only in such inoculated plants, one would seem justified in concluding that the bacteriophage later demonstrated in the plants was introduced with the original inoculum and was not accidentally picked up in the soil (cf. the results with healthy Beta). But a point of exceeding interest here is that the bacteriophage so introduced can pass from the zone of infection to other, healthy parts of the plant. Smith (22, 23) and Brown (6) have found that daisy and rose plants bearing crown galls show a greater or less resistance to later infections, and Arnaudi (2, 3) noted that presence of a crowngall inhibits reinfection a few centimeters from the preexisting gall. May this refractory condition possibly be the result of a prophylactic action of the bacteriophage diffusing out from the zone of infection? The question must at present remain unanswered, but offers

Table 5. Isolations of bacteriophage from tissues of Beta vulgaris. Explanation in the text.

	Beta. Bacteriophage inoculum isolated from tissues of:																				
	Gall							Healthy part of galled root							Healthy plant						
	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6	Exp. No.	Passage 1	2	3	4	5	6
Control:	233	0	0	0	0	0	0	254	0	0	0	0	0	0	183	0	0	0	0	0	0
Experimental:	234	0	+	++	++	++	++	255	0	0	0	0	0	0	184	0	+	++	++	++	++
	235	0	++	++	++	++	++	256	0	0	0	0	0	0	185	0	+	++	++	++	++
	236	0	0	0	0	0	0	257	0	0	0	0	0	0	186	0	0	0	0	0	0
	237	0	0	—	++	++	++	258	0	++	++	++	++	++	187	0	0	0	0	0	0
	238	0	++	++	++	++	++	259	0	+	++	++	++	++	188	0	0	0	0	0	0
	239	0	+	+	++	++	++	260	0	+	++	++	++	++	189	0	0	0	0	0	0
	240	0	++	++	++	++	++	261	0	0	+	++	++	++	190	0	0	0	0	0	0
	241	0	++	++	++	++	++	262	0	++	++	++	++	++	191	0	0	+	++	++	++
	242	0	++	++	++	++	++	263	0	+	++	++	++	++	192	0	0	+	++	++	++
	243	0	++	++	++	++	++	264	0	0	0	0	0	0	193	0	0	0	0	0	0
	244	0	0	0	+	++	++	265	0	+	+	++	+	++	194	0	0	0	0	0	0
	245	0	0	0	+	++	++	266	0	0	0	0	0	0	195	0	0	0	0	0	0
	246	0	0	++	++	++	++	267	0	++	++	++	++	++	196	0	0	0	0	0	0
	247	0	0	0	0	0	0	268	0	+	++	++	++	++	197	0	+	++	++	++	++
	248	0	0	0	+	++	++	269	0	++	++	++	++	++	198	0	0	0	0	0	0
	249	0	—	++	++	++	++	270	0	0	0	0	0	0	199	0	0	0	0	0	0
	250	0	0	0	0	0	0	271	0	++	++	++	++	++	200	0	0	0	0	0	0
	251	0	0	0	0	0	0	272	0	0	0	0	0	0	201	0	0	0	0	0	0
	252	0	0	0	0	0	0	273	0	0	—	++	++	++	202	0	0	0	0	0	0
	253	0	++	++	++	++	++	274	0	0	0	0	0	0	203	0	+	++	++	++	++
% of tissues tested yielding phage:	75							60							30						

an interesting and important line for further investigation. That only 30% of the healthy tissues of galled plants contained bacteriophage in comparison with 40% of the galls is apparently answerable either in terms of the distance of the healthy tissues tested from the galls or of the difference in concentration of the bacteriophage in galls and healthy parts. This distance, from gall to healthy part tested, varied from one to several centimeters, and the difference in percent is thus readily to be understood, since one could hardly anticipate an unlimited distribution of bacteriophage of relatively high concentration throughout the plant. In any case the experimental data show that bacteriophage can diffuse out from the zone of infection for a distance of one or more centimeters and there be recovered in significant amount.

Passing now to the results with Beta (Table 5) we find that the general features of the findings are similar, with the important exception that in Beta bacteriophage was present in a considerable number of the cases tested in roots which had not been inoculated. Israilsky, the only other worker who has investigated bacteriophage in healthy, non-galled Beta roots (12), failed to find bacteriophage present in such roots. We know from the work of Gerretsen et al. (9), Anderson (1), Massey (18), and Moore (19) that various types of soils may contain bacteriophage active against a variety of bacterial species, although other soils may not (Gerretsen et al.; 9). Israilsky in his soil tests did not find bacteriophage present. The bacteriophage present in the non-infected Beta roots of Table 5 must assuredly have come from the soil, and it thus seems evident that the differences in the results of Israilsky and of the present study may be understood in terms of the presence or absence of bacteriophage in the soil in which the experimental plants were grown. Only experiments with soils of controlled sterility can finally settle this question, but the data of Table 5 appear to offer a bona fide example of the possibility of the entrance of bacteriophage within a root in sufficient quantity to be repeatedly demonstrable. In the tests of the present study the surface sterilization (with Bunsen flame), and subsequent technique of isolation were so carefully controlled that there can be no possibility of an accidental introduction of a bacteriophage from adhering soil, and the relatively high percent of cases of its occurrence within healthy roots would also argue against such assumed accidental introduction. The bacteriophage was actually present within the roots, from 5 mm. to 1 cm. or more from the surface of the roots. Why, then, was not bacteriophage demonstrated in the stems of Pelargonium plants which were grown in essentially similar soil? The most likely answer to this question is that which also applied to the healthy parts of galled Pelargonium stems, namely that from the root surface to point of isolation in the Beta roots was only a matter of a centimeter more or less, while from the root surface to the point on the stem tested in healthy Pelargonium was a distance of many centimeters, 10 to 50 or more. With this distance one would expect great dilution or decrease in potency or both, if the bacteriophage actually could travel this far in the plant, and reasoning thus there does not appear any significant discrepancy in the results with Beta, and Pelargonium.

As for the results with the Beta galls and the healthy parts of galled Beta roots, these are perfectly confirmatory of those with Pelar-

gonium. Bacteriophage was present in both types of tissue, and in a somewhat greater percentage of the galls than of the nearby tissues, again in all probability due to the limited distance of diffusion from gall to surrounding tissues. The higher percentages in Beta than in Pelargonium are doubtles due to the fact that in Pelargonium the bacteriophage came from one source, the contaminated bacteria used in inoculation, while in Beta there were two sources of bacteriophage: the contaminated bacteria of inoculation as in Pelargonium, and the bacteriophage of the soil as in the healthy beets. Indeed if one consider that 30% of the bacteriophage in the Beta roots came from the soil, as was the case in healthy Beta roots, and deduct this 30% from the percentages with the galled plants, the corrected values (45%, 30%) are almost exactly those of the galled Pelargonium stems (40%, 30%).

In summarizing the present section the following points are of importance:

1. Bacteriophage has been abundantly found in crown galls of Beta and Pelargonium several months after infection by a strain of Bacterium tumefaciens containing a weak bacteriophage in permanent association with the bacteria.
2. Bacteriophage has also been found in the healthy tissues of crown-galled plants at short distances from the galls, indicating the possibility of the bacteriophage to migrate outward from the galls, and thus allowing the possibility of a mechanism of acquired immunity.
3. Bacteriophage has been found in healthy, non-infected roots of Beta (but not in stems of Pelargonium) indicating the possibility for a soil-borne bacteriophage to enter the plant and circulate for a limited distance in the healthy plant, thus affording a second chance for prophylaxis.
4. A diminution in the occurrence of the bacteriophage as one passes from a gall to the surrounding healthy tissues or from roots (Beta) to stems (Pelargonium) indicated a certain resistance to free circulation of the bacteriophage within the plant, such as to localize the successful isolations within a few centimeters of the original locus of the bacteriophage, and thus to localize any prophylactic effect which the bacteriophage may have.

V. Discussion.

The period of blind, exploratory research in the field of bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria is past. The techniques as discussed and standardized in Section III of this paper afford a firm basis for further resarch in this field, as has been demonstrated by the consistency in results of thousands of inoculations here reported employing these techniques. In addition, the following facts in reference to bacteriophage may be considered as demonstrated: that bacteriophage is frequently associated with stock cultures of phytopathogenic bacteria; that bacteriophage is very generally present in the infected areas of crown galls caused by Bact. tumefaciens as well as in lesions caused by other bacteria in plants; that from these infected areas the bacteriophage may diffuse out for a limited distance into the surrounding healthy tissues; that healthy plants may at times contain bacteriophage, explainable only through the assumption that

the bacteriophage passes from the soil (where it has been repeatedly demonstrated) to the tissues of healthy plants. Thus the path is clear for further work in this field.

Many important points, however, remain unsolved. Despite the preliminary experiments of Israilsky, Kauffmann, and others, we are as yet unable to come to final conclusions as to the rôle of bacteriophage in plant disease. To what extent may the bacteriophage diffusing outward from the bacterial lesions or that passing into the plant from the soil act as a natural prophylaxis? If such prophylaxis follows, may practical advantage be taken of it in the combatting of bacterial diseases of plants? What is the effect of the bacteriophage present in bacterial inoculum which causes crown gall but which contains bacteriophage of weak virulence in permanent association with the bacteria? From the standpoint of pure bacteriology the plant bacteriophage may also have much to contribute, since in the plant kingdom the bacteriophage must perpetuate under very different conditions than in the bodies of warm-blooded animals. The preliminary studies of the nature of the bacteriophage of plant source leave much to be desired. Accurate experiments on pH, metabolism rates, and temperature are plainly indicated.

The study of bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria is thus at a turning point. Behind lie the many errors attendant to the first exploratory tests. Before lie a host of fascinating and important questions to be solved. The technique is now equal to the task, and the next few years should carry us far on the road toward an understanding of the rôle of bacteriophage in plant pathology.

VI. Summary.

1. The present paper reports an investigation of bacteriophage in relation to the crown gall disease in Pelargonium and Beta caused by Bacterium tumefaciens, and is based on a study of 12,000 cultures of bacteriophage and bacteria.

2. A considerable portion of the paper is devoted to a critical study of the techniques of bacteriophage investigation in relation to phytopathogenic bacteria. The many variables adversely affecting bacteriophage demonstration are studied in detail, and from the results of this study a satisfactory standard technique is described.

3. In 60 tests of Pelargonium stems bacteriophage was isolated from 40% of the crown galls, from 30% of the healthy tissues surrounding crown galls, and from none of the healthy, non-infected plants. In 60 tests of Beta roots bacteriophage was isolated from 75% of the galls, from 40% of the healthy tissues surrounding the galls, and from 30% of plants not infected by Bact. tumefaciens.

4. These tests confirm and extend the findings of earlier workers regarding the occurrence of bacteriophage in crown galls. The tests with Pelargonium show also that bacteriophage is able to diffuse outward from the lesions of infection into surrounding healthy tissues; those with Beta demonstrate in addition that bacteriophage from the soil can penetrate the healthy root tissues; although in both cases the distance traversed is apparently limited to a few centimeters or less. The question is raised of the possible prophylactic value of such bacteriophage in healthy tissues.

VII. Acknowledgement.

The studies herein reported were performed during my tenure of a Sheldon travelling fellowship from Harvard University. The work was carried out in the Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich in the laboratories of Professor Ernst Gäumann. I am indebted to Professor Gäumann for his original suggestion of the problem here considered, for his generous provision of laboratory space, equipment, and materials, and for his sustained interest, and suggestions throughout the work, and I wish to express here my gratitude to Professor Gäumann for his kindness and cooperation.

Literature cited.

1. Anderson, H. W., Bacteriophage of Bacterium Pruni. (Abst. in Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 144). — 2. Arnaudi, C., Sull' immunità acquisita nei vegetali. (Atti. Soc. Ital. Sci. Nat., Milano. An. 64. 1925. p. 230—238.) — 3. Arnaudi, C., Nuove esperienze sulla vaccinazione delle piante. (Riv. Patol. Veg. An. 18. 1928. p. 161—168.) — 4. Bowley, W. F., The nature of the virus principle in mosaic disease. (Nature. Vol. 127. 1931. p. 442.) — 5. Bewley, W. F., The nature of the virus principle in mosaic disease. (17th Ann. Rept. Cheshunt Exp. a. Res. Sta., Hertfordshire. (Eng. 1931. p. 45—46.) — 6. Brown, N. A., Experiments with Paris daisy and rose to produce resistance to crown gall. (Phytopath. Vol. 13. 1923. p. 87—99.) — 7. Brown, N. A., and Quirk, A. J., Influence of bacteriophage on Bacterium tumefaciens and some potential studies of filtrates. (Journ. Agr. Res. Vol. 39. 1929. p. 503—530.) — 8. Coons, G. H., and Kotila, J. E., The transmissible lytic principle (bacteriophage) in relation to plant pathogens. (Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 357—370.) — 9. Gerretsen, F. C., Gryns, A., Sack, J., and Söhngen, N. L., Das Vorkommen eines Bakteriophagen in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 60. 1923. S. 311—316.) — 10. D'Herelle, F., and Peyre, E., Contribution à l'étude des tumeurs expérimentales. (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. T. 185. 1927. p. 227—230.) — 11. Israilsky, W. P., Bakteriophagie und Pflanzenkrebs. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 67. 1926. S. 236—242.) — 12. Israilsky, W. P., Bakteriophagie und Pflanzenkrebs. II. Mitteilung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 71. 1927. S. 302—311.) — 13. Israilsky, W. P., Vergleichende Untersuchungen über die Rasseneigentümlichkeiten des B. tumefaciens und verwandter Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 79. 1929. S. 354—370.) — 14. Jaczewski, A. A., Bacteriophages considered from a phytopathological point of view. (Trans. Title.) (Reprinted from "Matters concerning mycology and phytopathology in Russia".) (Transl. Vol. 5. 1926. 12 pp.) — 15. Kauffmann, F., Zur Tumefaciensfrage. (Ztschr. Krebsforsch. Bd. 28. 1929. S. 109—120.) — 16. Kauffmann, F., Zur Biologie der Tumefaciensstämme. (Ztschr. Krebsforsch. Bd. 30. 1929. S. 290—294.) — 17. Mallmann, W. L., and Hemstreet, C., Isolation of an inhibitory substance from plants. (Journ. Agr. Res. Vol. 28. 1924. p. 599—602.) — 18. Massey, R. E., Studies on black-arm disease of cotton. II. (Empire Cotton Growing Rev. Vol. 8. 1931. p. 187—213.) — 19. Moore, E. S., D'Herelle's Bacteriophage in relation to plant parasites. (Abst. in South African Journ. Sci. Vol. 23. 1926. p. 306.) — 20. Muncie, J. H., and Patel, M. K., Potency and specificity of a lytic principle (bacteriophage) obtained from Pseudomonas tumefaciens. (Abst. in Phytopath. Vol. 19. 1929. p. 98.) — 21. Sibilia, C., Il batteriofago nella patologia vegetale. (Boll. R. Staz. Pat. Veg. An. 6. 1926. p. 200—209.) — 22. Smith, E. F., Bacteria in relation to plant disease. (Carnegie Inst. Washington, D.C. Vol. 2. 1911. p. 93—94.) — 23. Smith, E. F., Brown, N. A., and Townsend, C. O., Crown-gall of plants, its cause and remedy. (U. S. Dept. of Agric., Bur. Plant Indus., Bull. 213. 1911.)

Yeasts Found in Fermented Maple Syrup[1]).

By **F. W. Fabian** and **Harlow H. Hall**[2]),
Associate Professor of Bacteriology, Michigan State College
Bacteriologist, Michigan Department of Agriculture, Lansing, Mich.

With 7 figures in the text.

Introduction.

Every year there is a considerable loss of maple syrup through spoilage by fermentation. The extent of the loss depends upon several factors. Some of the more important considerations are, the way in which the maple sap is handled during manufacture, the method of treating the maple syrup after it is made, and the length and condition of storage. The present work was undertaken to determine the cause of the fermentation so that there might be a more intelligent application of preventive measures.

Previous Work.

Edson (1910) in his first work with maple sap found that the predominating organisms during the early part of the season belonged to the "yeast-like group" while bacteria were relatively few. These conditions were reversed as the season advanced. However, subsequent studies by Edson and Jones (1912) did not confirm these first observations. They found that relatively few microorganisms appeared early in the season and that bacteria usually predominated. Yeasts, as a rule, appeared in large numbers only after the season was well advanced. Their results showed that sweet maple sap may range from a few hundred to a million organisms per c.c. On the other hand the number of organisms in sour sap ranged from 320,000 to 141,000,000 per c.c. Their studies showed that there was a close correlation between the number of organisms present and the care taken in tapping the trees and the attention given the buckets in which the sap is collected. They point out that many of the objectionable flavors present in maple syrup are due solely to the action of microorganisms on the sap and not to physiological changes in the tree.

Recently Fellers (1933) has studied the cause of spoilage of maple sugar stored in tubs. He found the off-flavors produced in the sugar and the pure and blended table syrups made from maple sugar to be due to molds, principally Aspergillus. The molds produced invertase which inverted the sucrose in the maple sugar, causing it to become moist or semi-solid.

Though Edson and Jones made very valuable contributions on the influence of various factors present in maple sap on the quality of the maple syrup. They did not study the cause of the spoilage of the syrup. So far as can be found no studies have been made of this particular phase of the subject.

---

1) Journal Article No. 154 (N. S.) from the Michigan Agricultural Experiment Station. East Lansing, Michigan.

2) At present Assistant Bacteriologist, Food Research Division, U. S. Dept. of Agr., Washington, D. C.

Present Work.

Samples of fermented maple syrup were received from several places in Michigan and Vermont. They were plated out according to the method recommended by Fabian and Quinet (1928), except that maple syrup was substituted for honey. Later it was found that honey could be substituted for maple syrup with equally good results so that it was used in all subsequent work. Several colonies were fished from each plate and transferred to honey agar slants. These cultures were then studied morphologically, culturally and physiologically.

Characteristics of Yeasts.

The yeasts isolated and studied may be divided into seven groups, based upon their morphological, cultural and physiological characteristics.

Saccharomyces aceris-sacchari n. sp.

Group I. This group includes yeasts numbered 1 A, 1 C, 3 D and 5 A. They ferment glucose, fructose, mannose and sucrose but not arabinose, xylose, galactose, maltose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. They produce alcoholic fermentation in normal maple syrup. In a 10 per cent solution of maple syrup[1]) held at room temperature for 65 days, they produced from 3.50 to 3.83 per cent, average 3.67 per cent alcohol by weight.

They are characterized by a moderate growth on 30 per cent maple syrup agar. The growth is filiform at first, later becoming echinulate. The luster is glistening; the consistency is butyrous with no visible change in the medium. The growth is raised with a smooth topography, later becoming contoured. They produce no liquefaction in gelatin. The form of growth in the gelatin stab is filiform. The color of the growth in gelatin was greyish.

On potato slants the members of Group I produce an abundant spreading growth with a butyrous consistency. The elevation of the growth is raised with a verrucose topography. The medium is not changed; no gas is produced; and there is no chromogenesis. The size of the members of group I ranges from 3.5 to 7.0 μ.

Asexual reproduction is by means of budding. There is a tendency for the buds to remain attached to the mother cell in most cases. Sometimes several cells remain attached.

The ascospores are produced readily on carrot agar or carrot slants. They range in size from 2 to 4 μ. The number of ascospores in each cell ranges from one to four. Four is the most common number observed. By direct transformation of the vegetative cells, the asci are produced. Sexual reproduction takes place between the ascospores in the ascus after the ascospores have been formed and not prior to their formation, as in some genera. Conjugation occurs during the germination of the ascospores. Inside the ascus the ascospores during the process of germination send out germinating tubules which fuse. After fusion the nuclei from the two ascospores unite within the tubule to form the nucleus of the zygote. The zygote grows out

[1]) The solutions of maple syrup refered to in this paper were made by adding a definite amount by weight of a normal maple syrup containing 65.4 per cent sugar to the diluent.

through the ascus wall and forms the vegetative cells which reproduce asexually by budding, thus giving rise to the normal vegetative cells (Fig. 1).

This method of sexual reproduction by fusion of the germinating ascospores is different from that observed in the Schizosaccharomyces, Debaryomyces and Zygosaccharomyces where there is a normal sexual process preceding the formation of the ascus. The sexual process in the above mentioned genera is the more usual one. However, the sexual process observed in this Group may be considered as taking place earlier in the life cycle, at the beginning of the vegetative phase, rather than

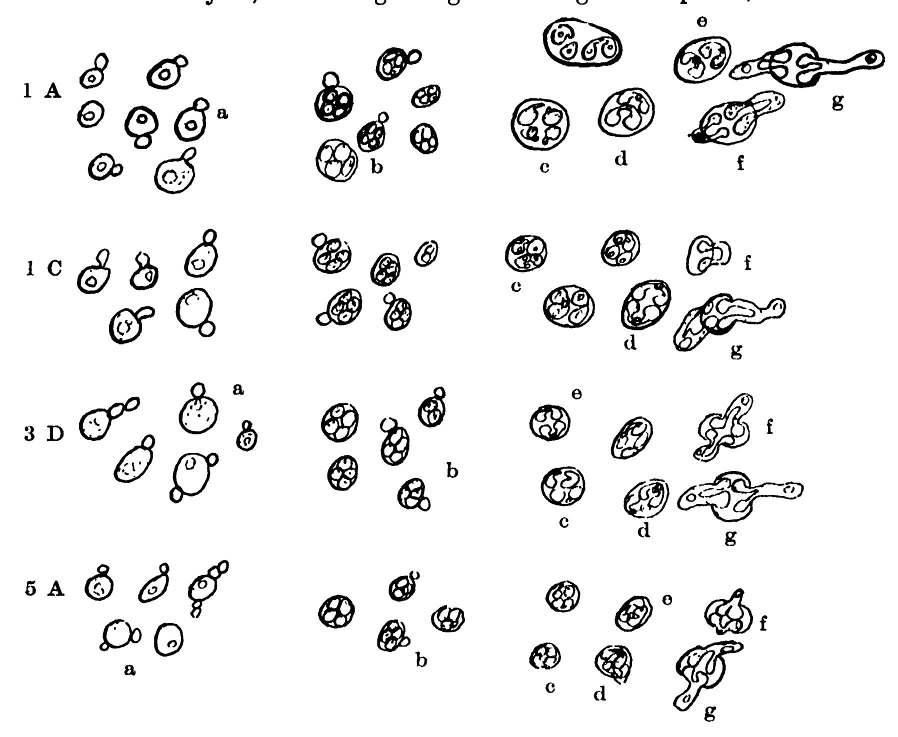


Fig. 1. Drawings of yeasts in Group I: Saccharomyces aceris-sacchari. (a) Vegetative cells grown on malt extract agar; (b) Ascus showing ascospores; (c) Germinating ascospores showing the beginning of the conjugation canal; (d) Conjugation of ascospores showing fusion of nuclei to form zygote. (f) Germinating zygote which has perforated the wall of the ascus. (g) A more advanced stage of a germinating zygote.

at its close. Here conjugation takes place after the formation of the ascospores rather than preceding their formation and the resulting cell grows into the vegetative cells. The details of the process as observed are shown in Fig. 1. Guilliermond believes that since the formation of the ascospores necessitates two successive divisions which are not separated by a period of intercalary growth, the resulting nucleus is so devitalized that this process is necessary to compensate for the loss of chromatin and revitalize the nucleus. However, since the evolutionary tendency in the plant kingdom seems to lead to the displacement of meiosis from a point immediately following nuclear fusion to a point shortly before nuclear fusion;

it would seem that Guilliermond is not correct in assuming that the sexual process described above represents a type of degeneration. On the contrary these yeasts in which the conjugation of the ascospores occurs have attained a level of evolution, as far as the sexual cycle is concerned comparable to that of Fucus among the algae and to the higher seed plants. In these the vegetative phase consists of cells with diploid nuclei and the haploid phase is very much abbreviated. It must be admitted that cytological studies are lacking which show that the vegetative cells of these yeasts contain diploid nuclei but in the absence of these studies, the observed phenomena can hardly be interpreted otherwise.

A search of the literature for a species of yeast corresponding in all respects to members of this Group has been in vain. It was thought at first that they corresponded to Saccharomyces zopfii Artari. A careful reading of Artari's (1896) description of Saccharomyces zopfii shows that it fermented mannitol while these yeasts do not. He also observed slight growth in maltose und sparse growth in inulin white there was no observed growth with these yeasts. He reported Saccharomyces zopfii to be very heat resistant. The vegetative cells withstood a temperature of 130° C. dry heat for 30 minutes and 66—67° C. moist heat for 30 minutes. Owen (1913) likewise found Saccharomyces zopfii extremely heat resistant. He found it able to resist a temperature of 90° C. for 10 minutes. In the present study the vegetative cells of this Group were killed at 55° C. in five minutes in broth and at 60° C. in maple syrup (except 1 C. which was killed at 60° C. in 10 minutes in maple syrup, Table 2). The ascospores were more heat resistant but were killed at 65° C. in broth (except 1 A which was killed in 10 minutes at 65° C.) and at 75° C. in five minutes in maple syrup (Table 3). It was impossible to obtain a culture of Saccharomyces zopfii in this country or from several places in Europe; therefore, it was not possible to check its sexual reproduction. Saccharomyces zopfii liquefies gelatin while this yeast doesn't.

In view of these considerations it is believed that a new species has been isolated and identified. The name suggested for this species is Saccharomyces aceris-sacchari. A description of the species in Latin is given herewith.

Saccharomyces aceris-sacchari n. sp.

Cellulis rotundatis, 3.5—7 μ, gemmantibus; ascis tetrasporis, in agaro carotino et in segmentis radicis carotae orientibus; ascosporis 2—4 μ, intra ascum inter se copulantibus et zygotum producentibus quod membranam asci perforat et cellula vegetativa fit. In canale copulationis coniuguntur nuclei ex ascosporis emergentes. Inducit fermentationem alcoholicam in dextrosio, levulosio, mannosio et saccharosio sed nullam in arabinosio, xylosio, galactosio, maltosio, lactosio, raffinosio, rhamnosio, mannitosio, salicino et inulino. Gelatinam non fluidificat. Culturis in saccharo aceris ad 30% cum agaro filiformibus et levibus; in segmentis tuberum Solani tuberosi culturis verrucosis, butyrosis, non chromogenicis.

Saccharomyces behrensianus (Behrens) Klöcker.

Group II. In this group are found yeasts numbered 1 B, 1 E, 2 A, 2 F and 3 C. They ferment glucose, fructose, mannose, and maltose but not

arabinose, xylose, galactose, sucrose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol salicin or inulin. They have the ability of fermenting normal maple syrup with the production of alcohol and carbon dioxide. The amount of alcohol by weight produced at room temperature in a 10 per cent maple sugar solution ranges from 1.98 to 2.46 per cent, with an average of 2.23 per cent. This group produces the least alcohol of any of the groups studied.

On 30 per cent maple syrup agar they produce a smooth filiform glistening growth which is slightly raised and convex with a butyrous consistency. On potato slants the growth is moderate, nonchromogenic, filiform with a dull lustre. The topography is verrucose. There is no liquefaction of gelatin. The growth in the gelatin stabs is filiform with a greyish color.

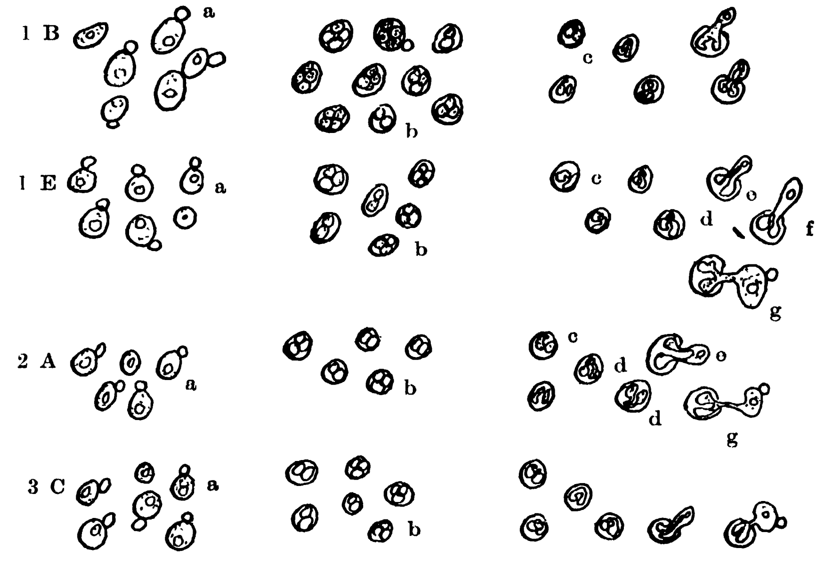


Fig. 2. Drawings of yeasts in Group II: Saccharomyces behrensianus. (a) Typical vegetative cells grown on malt extract agar. (b) Asci with ascospores produced on gypsum blocks. (c) Germinating ascospores showing the beginning of the conjugation canal. (d) Union of conjugation canals of germinating ascospores to produce zygote. (e) Germinating zygote which has perforated the ascus wall. (f) Advanced stage of germinating zygote. (g) Formation of vegetative cell from zygote.

The size of the cells in this group ranges from 4.0 to 9.0 μ. In form they are elliptical. The asexual method of reproduction is by budding. They produce ascospores on carrot slants and on carrot agar. The number of ascospores in each cell varies from one to four. The number most commonly found is four (Fig. 2). The yeasts in this Group have the same method of sexual reproduction as that just described for Group I.

This group of yeasts correspond very closely to a yeast discovered by Behrens (1896) on hops. The yeast produced no scum. The ascospores were spherical, 4 to 4.5 μ in diameter, and occurred two, three and four in an ascus. It fermented glucose, fructose and maltose but not sucrose, lactose or d-galactose. On 10 per cent wort gelatin, the giant colonies showed fine concentric rings which surrrounded a crateriform cavity which made up the center. The edge of the colony was a pure white and the middle portions a yellow color. The name which has been given to this yeast is

Saccharomyces behrensianus Klöcker. The ascospores of this yeast undergo conjugation before germination like those of Saccharomyces ludwigii Hansen and Saccharomyces acerissacchari just described. The only particular in which there is not close agreement is in the colonial forms. This does not seem to be a sufficiently important point of differentiation to establish a new species. This is said in the light of work which is now being done and which will soon be published, McCullough and Fabian (1933). It is, therefore, believed that since this Group of yeasts agrees in all the essentials with Saccharomyces behrensianus Klöcker, it should be so considered.

Zygosaccharomyces mellis Fabian and Quinet.

Group III. This group consists of yeasts numbered 2 B, 2 D and 3 A. They ferment only glucose, fructose and mannose with the production of carbon dioxide and alcohol. They do not ferment arabinose, xylose, galactose, sucrose, maltose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. They ferment normal maple syrup with the production of carbon dioxide and alcohol. The amount of alcohol produced by the members of this group ranged from 2.35 to 2.82 per cent by weight, with an average of 2.58 per cent.

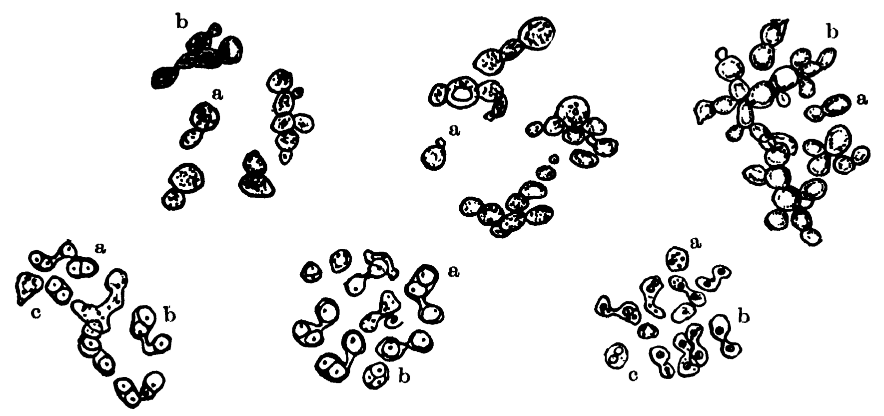


Fig. 3. Drawings of yeasts in Group III: Zygosaccharomyces mellis. Upper figures. — (a) Vegetative cells grown in 10 per cent fructose broth. (b) Budding vegetative cells. — Lower middle figure: (a) Isogamic conjugation of vegetative cells. (b) Parathenogenetic development of ascus. (c) Zygote resulting from isogamic conjugation.

In the actively growing vegetative stage the yeasts in this group tend to form elongated cylindrical cells. There is a tendency for the daughter cells to adhere to the mother cells, thereby forming chains containing as many as five or more elements. There is a great variation in size due to this characteristic. The average is about 3.5 by 7.0 μ but some cells were as long as 16.0 μ. After a few days on carrot slants or on carrot agar, the long chains are no longer evident and the cells are shorter, broader and more nearly round. The number of ascospores in each end of the dumb-bell shaped ascus is usually two, few have·three, some one and occasionally four are observed, but this is rare.

The growth on 30 per cent maple syrup agar is a moderate, filiform, glistening growth with a butyrous consistency. On potato slants the growth

is a moderate, filiform dull growth tending to become verrucose. In gelatin stabs they produce a filiform growth but no liquefaction.

The members of this Group reproduce asexually by budding. The buds tend to adhere to the mother cell. Sexual reproduction is by isogamic copulation of two vegetative cells. The vegetative cells send out conjugating canals which fuse, giving the characteristic dumb-bell or retort appearance to the cells after fusion. After conjugation the ascospores are formed, usually two in each end of the retort-shaped ascus. Occasionally all the ascospores are in one end or again three may be found in one end and one in the opposite end. This method of reproduction is considered the normal sexual process in yeasts. Here fecundation precedes the formation of the ascospores in the asci while in the Saccharomyces aceris-sacchari the fecundation took place after their formation and during their germination (Fig. 3).

Since this Group corresponds in all the essentials to Zygosaccharomyces mellis Fabian and Quinet, they are considered as members of this species. Fabian and Quinet (1928) first isolated this yeast from fermenting honey. Later Lochhead and Heron (1929) of Canada and Marvin et al (1931) of the United States and Sacchetti of Italy (1932) found the same species of yeast in samples of fermenting honey.

Saccharomyces monacensis Hansen.

Group IV. This group comprises yeasts numbered 2 G, 3 F, 4 A, 4 B and 5 C. They are characterized physiologically by the fermentation of glucose, fructose, mannose, sucrose, and maltose with the production of carbon dioxide and alcohol. They do not ferment arabinose, xylose, galactose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. Normal maple syrup is fermented with the production of carbon dioxide and alcohol. The amount of alcohol produced in a 10 per cent solution of maple syrup in 65 days ranges from 2.34 to 3.70 per cent, with an average of 3.10 per cent by weight. This approximates very closely the average alcoholic production for Group I.

The cultural characteristics of this group are an abundant growth on 30 per cent maple syrup agar. The growth is dull filiform, butyrous and contoured. On potato slants the growth is glistening and verrucose with a butyrous consistency. They produce a beaded growth in gelatin stabs but there is no liquefaction of the gelatin.

This group is characterized morphologically by nearly round cells that reproduce asexually by budding. The buds have a tendency to adhere to the mother cell in the vegetative stage. Budding occurs at several places on the mother cell. They vary in size from 3 to 8 μ. The asci occur singly and in most cases have four ascospores. Occasionally there are two and sometimes three ascospores within the ascus but more often four and rarely one.

The vegetative cells by direct transformation produce the ascospores in the ascus. The ascospores send out conjugation canals which unite to form a zygote which in turn germinates into the vegetative cell, Fig. 4. The details of this method of sexual reproduction have been discussed under Group I.

The species, Saccharomyces monacensis, was described for a long time under the provisional name of Carlsberg Yeast II. Hansen

(1908) restudied this yeast and also the yeast which had been given the provisional name, Carlsberg Yeast I, and named them Saccharomyces monacensis and Saccharomyces Carlsbergensis respectively. In the original description by Hansen no reference is made to the method of sexual reproduction of Saccharomyces monacensis. In order to check the characteristics of members of this Group with those of Saccharomyces monacensis, a culture of this yeast was secured from Doctor F. W. Tanner of the University of Illinois.

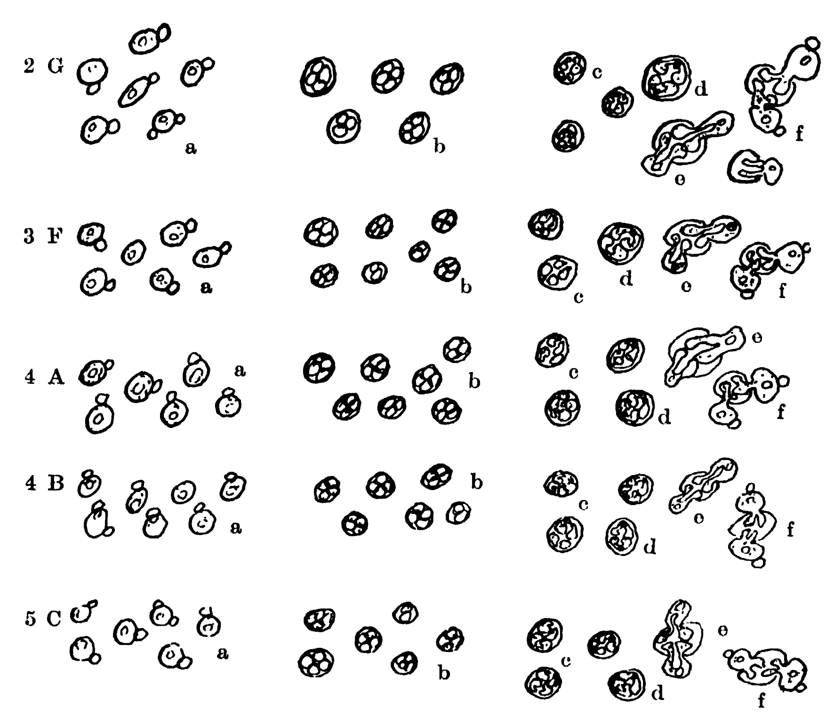


Fig. 4. Drawings of yeasts in Group IV: Saccharomyces monacensis. (a) Vegetative cells grown on malt extract agar. (b) Asci with ascospores. (c) Germinating ascospores showing the beginning of conjugation canal. (d) Conjugation of ascospores showing fusion of nucleus to from zygote. (e) Germinating zygote which has perforated the cell wall of ascus. (f) Formation of vegetative diplont cell from zygote.

It was found that the cultural, morphological and physiological characteristics were in essential agreement. A detailed study was also made of the method of sexual reproduction in this culture of Saccharomyces monacensis. It was found that the asci were formed by the direct transformation of the vegetative cells (Fig. 4). At the time of germination the ascospores develop conjugation canals through which the nucleus of each cell passes to form the nucleus of the zygote. The zygote then developes into the vegetative cell. This method of reproduction has been discussed more fully under Group I.

In view of the above considerations, it is believed that the members of this Group may be classified as Saccharomyces monacensis Hansen.

Zygosaccharomyces barkeri (Barker) Saccardo and Sydow.

Group V. This group comprises yeasts numbered 1 F and 5 B. They ferment glucose, fructose, mannose and sucrose but not arabinose, xylose, galactose, maltose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. They have the ability to ferment normal maple syrup with the production of alcohol and carbon dioxide. The amount of alcohol produced in a 10 per cent solution of maple syrup in 65 days at room temperature was 2.18 and 3.61 per cent respectively.

The cultural characteristics of this group are an abundant growth on 30 per cent maple syrup agar. The growth was a dull, convex, echinulate verrucose, opaque growth on this medium. In a gelatin stab the growth was filiform with no liquefaction.

Asexual reproduction was by budding. The vegetative cells are oval with a tendency of the daughter cells to adhere to the mother cell. They range from 3.0 to 6.5 μ. Sexual reproduction is by means of isogamic conjugation of two cells by means of a conjugation canal to form an ascus. This canal may be observed extending from each cell giving them the characteristics dumb-bell effect. The ascospores are formed in the swollen ends of the ascus, usually two in each end (Fig. 5).

The members of this group correspond to Zygosaccharomyces barkeri (Barker) Saccardo and Sydow. Barker (1901) first isolated this yeast from ginger beer to which had been added sucrose and nutrient salts. It has since been found in fermented honey by Fabian and Quinet (1928), Lochhead and Heron (1929) and Marvin et al (1931).

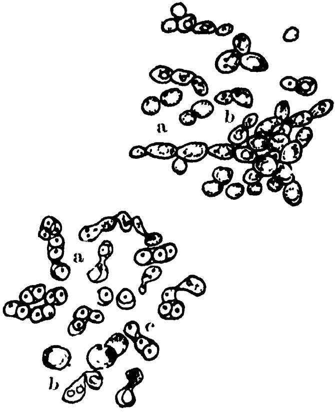


Fig. 5. Drawing of yeasts in Group V: Zygosaccharomyces barkeri. Upper figure: (a) Vegetative cells grown in 10 per cent fructose broth. (b) Budding vegetative cell showing mother and daughter cell. — Lower figure: (a) Ascus with ascospores resulting from isogamic copulation. (b) Gametes showing the beginning of conjugation. (c) Cell above and to the right of (c) showing parthenogenesis. (Two spored ascus partially overlying one of two conjugating cells.)

Zygosaccharomyces japonicus Saito.

Group VI. This group contains but one member, 2 F. It ferments glucose, fructose, mannose and maltose but not arabinose, xylose, galactose, sucrose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. It has the ability to ferment normal maple syrup. In 10 per cent maple syrup it produced 2.42 per cent alcohol by weight in 65 days at room temperature.

The growth on 30 per cent maple syrup agar is moderate, echinulate, convex, glistening, verrucose and opaque. In a gelatin stab the growth is scanty and filiform, with no liquefaction.

Asexual reproduction was by budding. The daughter cells tend to remain with the mother cells so that chain formation may be observed under certain conditions. The vegetative cells range from 2.0 to 7.0 μ. Isogamic conjugation precedes ascospore formation. The asci present the familiar dumb-bell shape resulting from the union of two vegetative cells by means

of a conjugation canal. The ascospores are formed in the enlarged ends of the ascus after conjugation has taken place (Fig. 6).

This yeast agrees very closely with Zygosaccharomyces japonicus Saito.

This yeast was isolated from the products of fermenting Soya by Saito (1906). It has since been isolated from fermenting honey by Fabian and Quinet 1928).

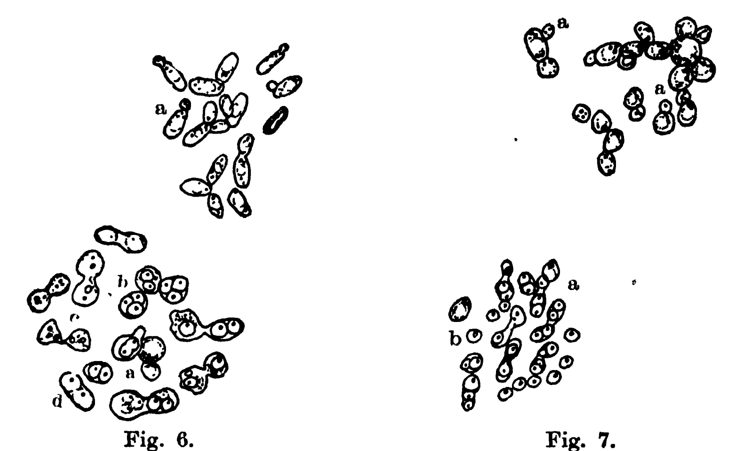


Fig. 6. Fig. 7.

Fig. 6. Drawings of yeasts found in Group VI: Zygosaccharomyces japonicus. Upper figure: (a) Vegetative cells grown in 10 per cent fructose broth. — Lower figure: (a) An ascus containing ascospores resulting from isogamic conjugation. (b) An ascus containing ascospores resulting from parthenogenesis. (c) Two gametes sending out conjugation canals preparatory to conjugation. (d) Zygote showing union of gametes.

Fig. 7. Drawings of yeasts found in Group VII: Zygosaccharomyces nussbaumeri. Upper figure: (a) Vegetative cells grown in 10 per cent fructose broth. — Lower figure: (a) An ascus containing ascospores resulting from isogamic conjugation. (b) Parthenogenetic development of ascus.

Zygosaccharomyces nussbaumeri Lochhead and Heron. (Syn. Zygosaccharomyces priorianus Fabian and Quinet, not Klöcker).

Group VII. This group contains but one culture, 4 C. This yeast ferments glucose, fructose, mannose, sucrose and maltose but not arabinose, xylose, galactose, lactose, raffinose, rhamnose, mannitol, salicin or inulin. It is capable of fermenting normal maple syrup. In a 10 per cent maple syrup solution held at room temperature for 65 days, it produced 3.53 per cent alcohol by weight.

It grows abundantly on 30 per cent maple syrup agar producing an echinulate, convex, dull verrucose, opaque growth. The line of puncture in a gelatin stab is filiform with no liquefaction of the gelatin. A ring but no scum is produced in 10 per cent maple syrup broth.

Asexual reproduction is by budding. The vegetative cells are mostly oval; some are elongated. They range in size from 2.0 to 7.0 μ, averaging about 4.0 μ. Sexual reproduction is by means of isogamic conjugation producing a zygote with the characteristic dumb-bell appearance. Ascospores are produced in the enlarged ends of the ascus, usually two in number in each end. Parthenogenesis is observed frequently in this yeast (Fig. 7).

Table 1. Physiological Characteristics of Yeasts Isolated from Maple Syrup.

Culture No.	Fermentations in a 10% solution of														Maple syrup (conc.)	C_2H_5OH from 10% syrup in 65 days at 20° C.		12% Gelatin liquif.				Scum formation 10% syrup broth 25° C.	
	Arabinose	Xylose	Glucose	Fructose	Mannose	Galactose	Sucrose	Maltose	Lactose	Raffinose	Rhamnose	Mannitol	Salicin	Inulin		Vol.	Wt.	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	ring	film
1 A	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	4.15	3.82	—	—	—	—	+	+
2 A	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	2.50	1.98	—	—	—	—	+	+
3 A	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	3.55	2.82	—	—	—	—	+	—
4 A	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	4.65	3.70	—	—	—	—	+	—
5 A	—	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	4.45	3.54	—	—	—	—	+	—
1 B	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	3.10	2.46	—	—	—	—	+	—
2 B	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	2.96	2.35	—	—	—	—	—	—
4 B	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	3.05	2.42	—	—	—	—	+	—
5 B	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	4.54	3.61	—	—	—	—	+	—
1 C	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	4.05	3.83	—	—	—	—	+	+
3 C	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	2.79	2.21	—	—	—	—	+	—
4 C	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	4.42	3.53	—	—	—	—	+	—
5 C	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	4.35	3.46	—	—	—	—	+	—
2 D	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	3.35	2.56	—	—	—	—	+	—
3 D	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	4.40	3.50	—	—	—	—	+	+
1 E	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	2.65	2.10	—	—	—	—	+	—
1 F	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	2.75	2.18	—	—	—	—	+	—
2 F	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	3.05	2.42	—	—	—	—	+	—
3 F	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	3.95	3.14	—	—	—	—	+	—
2 G	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	2.95	2.34	—	—	—	—	+	—

\+ = Fermentation with gas.
— = No fermentation.

The characteristics of this yeast agree in all essential details with Zygosaccharomyces nussbaumeri Lochhead and Heron. This yeast was first isolated and correctly described by Fabian and Quinet (1928). However, due to an error in the description given in Guilliermond (1920, p. 207) this yeast was incorrectly named Zygosaccharomyces priorianus Klöcker, by Fabian and Quinet. Later Lochhead and Heron (1929) in their work on fermented honey discovered the error and named this same yeast Zygosaccharomyces nussbaumeri. Marvin et al (1931) also found this yeast in fermented honey, as did Sacchetti (1932).

Thermal Death Point Determinations.

In order to ascertain the degree of heat necessary to kill the vegetative and sporulating yeast cells a series of determinations was carried out both in broth and maple syrup. The broth was standard nutrient broth adjusted to pH = 7.0. The maple syrup was normal, unfermented maple syrup. The vegetative cells were 24 hour vigorously growing cells which had been transferred several times in 10 per cent fructose broth.

The results of this series of experiments are given in Table 2. In nutrient broth the vegetative cells were all killed at a temperature of 55° C. for five minutes but were able to withstand 50° C. for 15 minutes. In normal, unfermented maple syrup the same group of yeasts were much more resistant. They were killed except in two cases at a temperature of 60° C. in five minutes. All were killed at 60° C. in 10 minutes.

The same procedure was followed in the case of the thermal death point determinations of the ascospores. The cells were allowed to grow in 10 per cent fructose broth until there were abundant sporulating cells. These cells were then centrifuged out and transferred to nutrient broth and normal unfermented maple syrup and thermal point determinations immediately made.

The results of these experiments are given in Table 3. The degree of heat necessary to kill the ascospores in broth is 65° C. for five minutes in all cases except one. This is 10 degrees higher than for the vegetative cells in the same medium and under the same conditions. It required a temperature of 75° C. for five minutes to kill the sporulating yeast cells in normal unfermented maple syrup. This is an increase of 15° C. over that required to kill the vegetative cells of the same yeasts in the same medium.

These experiments clearly demonstrate the protective action of maple syrup for yeast cells and likewise the greater resistance to heat of the sporulating cells as compared to the vegetative cells. One can likewise conclude from these experiments that it would be necessary to heat maple syrup to a temperature of at least 75° C. for five minutes to insure the killing of all sporulating yeasts.

Moisture Determinations on Maple Syrup.

The percentage of moisture in various samples of fermented and unfermented maple syrup was determined in order to study the relationship between fermentation and the moisture content. The refractometer method of determining moisture was used according to the offcial procedure given by the Association of Official Agricultural Chemists (1920). The results obtained are given in Table 4.

Table 2. Thermal Death Points of Vegetative Yeast Cells in Broth.

Culture No.	45° C. Minutes 5	45° C. Minutes 10	45° C. Minutes 15	50° C. Minutes 5	50° C. Minutes 10	50° C. Minutes 15	55° C. Minutes 5	55° C. Minutes 10	55° C. Minutes 15	60° C. Minutes 5	60° C. Minutes 10	60° C. Minutes 15
1 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 D	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 D	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 E	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 G	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Thermal Death Point of Vegetative Yeast Cells in Maple Syrup.

Culture No.	50° C. Minutes 5	50° C. Minutes 10	50° C. Minutes 15	55° C. Minutes 5	55° C. Minutes 10	55° C. Minutes 15	60° C. Minutes 5	60° C. Minutes 10	60° C. Minutes 15	65° C. Minutes 5	65° C. Minutes 10	65° C. Minutes 15
1 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 A	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
3 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 A	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 B	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 D	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 D	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 E	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 F	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 G	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Results.

A total of 25 samples were analyzed. The first 17 samples given in the table are normal samples of maple syrup made in Michigan and were procured on the open market. Their moisture content ranged from 26.3

Table 3. Thermal Death Points of Ascospores in Broth.

Culture No.	50° C.			55° C.			60° C.			65° C.			70° C.		
	Minutes			Minutes			Minutes			Minutes			Minutes		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
1 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
2 A	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
3 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 A	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 B	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 F	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
3 F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Thermal Death Points of Ascospores in Maple Syrup.

Culture No.	60° C.			65° C.			70° C.			75° C.			80° C.		
	Minutes			Minutes			Minutes			Minutes			Minutes		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
1 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
4 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
5 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1 F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3 F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
2 G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

to 36.5 per cent. Samples numbered 18 to 25 inclusive were obtained from Michigan and Vermont and showed visible signs of fermentations. Their moisture content ranged from 32.7 to 34.6.

The first 17 samples were fresh maple syrup procured in the spring of 1929 during the maple syrup season and hardly had time to spoil. The

Table 4. Analysis of Maple Syrup for Moisture.

Sample No.	Per cent moisture	Per cent Total solids	Condition	Source
1	35.3	64.7	No fermentation	Michigan
2	31.9	68.1	,, ,,	,,
3	37.6	62.4	,, ,,	,,
4	30.0	70.0	,, ,,	,,
5	29.9	70.1	,, ,,	,,
6	33.1	66.9	,, ,,	,,
7	32.9	67.1	,, ,,	,,
8	35.4	64.6	,, ,,	,,
9	33.1	66.9	,, ,,	,,
10	32.6	67.4	,, ,,	,,
11	31.6	68.4	,, ,,	,,
12	32.0	68.0	,, ,,	,,
13	30.6	69.4	,, ,,	,,
14	26.3	73.7	,, ,,	,,
15	36.5	63.5	,, ,,	,,
16	31.6	68.4	,, ,,	,,
17	32.0	68.0	,, ,,	,,
18	33.9	66.1	Fermented	Vermont
19	34.6	65.4	Moldy	,,
20	33.5	66.5	Fermented	Michigan
21	32.7	67.3	,,	Vermont
22	34.2	65.8	,,	Michigan
23	33.0	67.0	,,	,,
24	33.9	66.1	,,	,,
25	33.0	67.0	,,	,,

eight samples of fermented maple syrup had been made the previous season and had spoiled during the year. Doubtless many of the unfermented samples if not consumed within a reasonable time would likewise have spoiled.

Moisture Experiments with Maple Syrup.

In order to see the avidity with which maple syrup absorbs or gives off water a series of experiments was set up designed to study this relationship.

Thousand gram samples were placed in a desiccator over moisture and held at 20° C. for a period of 36 days. Moisture determinations were made once each week.

The amountsof water absorbed by the three different samples tested under these conditions were 18.5, 18.5 and 23.2 per cent, respectively.

The next experiment was to determine how readily maple syrup gives up moisture when placed in dry atmosphere. Accordingly 1000 gram samples of the same maple syrup were placed in a desiccator over calcium chloride at room temperature. Moisture determinations were made once each week until the maple syrup "sugared". The amounts of moisture lost under these conditions were 59.2, 55.1 and 55.6 per cent, respectively, for the three samples.

Relation of Moisture to Fermentation.

A series of experiments was set up to see how long it would take maple syrup to ferment in a humid atmosphere if it contained yeasts. Four 1000 gram samples of normal sterilized maple syrup were inoculated with yeasts isolated from fermented maple syrup and placed in a humid atmo-

sphere at room temperature (average 20° C.). Moisture determinations were run once each week and the time required for fermentation to take place was noted. The results of these experiments are given in Table 5.

Table 5. Relation of Moisture to Fermentation.

Sample No.	Date	Per cent moisture	Remarks
1	7. 1. 30	34.6	No fermentation
	7. 9. 30	34.8	no fermentation
	7. 16. 30	34.8	no fermentation
	7. 22. 30	35.1	no fermentation
	7. 30. 30	35.3	fermentation
2	7. 1. 30	34.6	no fermentation
	7. 9. 30	35.8	no fermentation
	7. 16. 30	36.2	no fermentation
	7. 22. 30	36.8	fermentation
3	7. 1. 30	33.7	no fermentation
	7. 9. 30	34.1	no fermentation
	7. 16. 30	34.8	no fermentation
	7. 22. 30	35.4	fermentation
4	7. 1. 30	32.8	no fermentation
	7. 9. 30	33.0	no fermentation
	7. 16. 30	33.5	no fermentation
	7. 22. 30	34.1	fermentation

It required 29 days for visible fermentation to take place in sample 1, Table 5. Fermentation took place in 21 days in the other three samples, Table 5. This shows how quickly maple syrup containing yeasts would spoil if kept in a moist place at or near room temperature.

Amount of Alcohol in Fermented Maple Syrup.

Determinations were made of the amount of alcohol present in four of the samples of fermented maple syrup from which the yeasts were isolated. The amounts of alcohol found were 0.83, 1.23, 2.34 and 2.66 per cent by weight, respectively, for the four samples.

Summary.

Nineteen yeasts were isolated from samples of fermented maple syrup made in Michigan and Vermont.

A morphological, cultural and physiological study of them showed that they could be classified into seven groups as follows:

Group I. Saccharomyces aceris-sacchari n. sp.

Group II. Saccharomyces behrensianus (Behrens) Klöcker.

Group III. Zygosaccharomyces mellis Fabian and Quinet.

Group IV. Saccharomyces monacensis Hansen.

Group V. Zygosaccharomyces barkeri (Barker) Saccardo and Sydow.

Group VI. Zygosaccharomyces japonicus Saito.

Group VII. Zygosaccharomyces nussbaumeri Lochhead and Heron.

Thermal death point determinations upon the vegetative cells and ascospores gave the following results:

Vegetative cells when heated in nutrient broth were killed at a temperature of 55° C. in five minutes. They were killed in normal unfermented maple syrup at 60° C. in five minutes, except two cultures which were killed at 60° C. in 10 minutes.

The ascospores when heated in nutrient broth were killed, in most cases, at 65° C. in five minutes. It required 75° C. for five minutes to kill them in maple syrup.

The moisture content of freshly made maple syrup ranged from 26.3 to 36.5 per cent. Samples of maple syrup showing visible signs of fermentation contained from 32.7 to 34.6 per cent moisture.

Three samples of maple syrup placed at room temperature in a desiccator in a moist atmosphere absorbed 18.5, 18.5 and 23.2 per cent moisture, respectively, over a period of 36 days.

Three samples of maple syrup placed at room temperature in a desiccator over calcium chloride lost 59.2, 55.1 and 56.6 per cent moisture, respectively, over periods of 42, 30 and 42 days, respectively.

Samples of sterile maple syrup inoculated with yeasts isolated from maple syrup when placed at room temperature in a desiccator in a moist atmosphere required a minimum of 21 days and a maximum of 29 days for visible fermentation to take place.

The amount of alcohol present in samples of fermented maple syrup from which yeasts were isolated ranged from 0.83 to 2.66 per cent by weight.

Literature-Cited.

Artari, A., Über einen im Safte der Zuckerfabriken in Gemeinschaft mit Leuconostoc schädlich auftretenden, den Zucker zu Alkohol und Säure vergärenden Saccharomyces (Saccharomyces zopfii). (Abhandl. d. Naturf. Ges. Halle. Bd. 21. 1896.) — Barker, P., A conjugating yeast (Zygosaccharomyces, N. gen.). (Proc. Royal Soc. Vol. 6. July 8. 1901); On the spore formation among the Saccharomyces. (Journ. Federal Inst. of Brewing. Vol. 8. 1902.) — Behrens, J., Studien über die Konservierung und Zusammensetzung des Hopfens. (Wochenschr. f. Brauer. Bd. 13. 1896.) — Edson, H. A., Buddy sap. Bul. 151. Vt. Agr. Exp. Station. — Edson, H. A., and Jones, C. H., Microorganisms of maple sap. (Bul. 167. Vt. Agr. Exp. Station. 1912.) — Fabian, F. W., and Quinet, R. I., A study of the cause of honey fermentation. (Techn. Bul. 92, Mich. Agr. Exp. Station. 1928.) — Fellers, C. R., Spoilage of maple products by molds. (Journ. of Bact. Vol. 25. 1933. p. 67—68.) — Guilliermond, A., The yeasts. Trans. by F. W. Tanner, John Wiley and Sons, N. Y. 1920. — Hansen, E. C., Recherches sur la morphologie et la physiologie des fermentes alcooliques. XIII. Nouvelles études sur des levures de brasserie a fermentation basse. (Compt. Rend. du lab. de Carlsberg. Vol. 7. 1908. p. 179—217.) — Lochhead, A. G., and Heron, D. A., Microbial studies of honey. (Bul. 116. N. S. Canadian Dept. of Agr. 1929.) — Marvin, G. E., Peterson, W. H., Frod, E. B., and Wilson, H. F., Some of the characteristics of yeasts found in fermenting honey. (Journ. Agr. Res. Vol. 43. 1931. p. 121—131.) — McCullough, N. B., and Fabian, F. W., A preliminary report on the dissociation of yeasts. Michigan Academy of Science. March 17. 1933. (Unpublished paper.) — Official and Tentative method of analysis. Association of Official Agricultural Chemists. 1920. — Owen, W. L., The occurrence of Saccharomyces zopfii in cane syrups and variation in resistance to high temperatures when grown in solutions of varying density. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913.) — Sacchetti, D. M., Intorno ad alcuni „Zygosaccharomyces". (Rend. della R. accad. Naz. dei Lincei. Vol. 15. 1932. p. 762—765.)

Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria.

II. Sodium Nitrate.

[Department of Bacteriology, University of Illinois. Urbana, Illinois.]

By **Fred W. Tanner** and **Florence L. Evans.**

The use of saltpeter in meat curing solutions dates from a very early time. There is probably no record of the first use of this salt for this purpose. It is known, however, that sausage has been cured with nitrate for over one hundred years. Saltpeter has probably been used in other meat products for a much longer time. It was widely used in America for hams and bacon cured under domestic conditions.

Nitrates have been added to meat curing solutions mainly to function as color fixatives, although, as such they have no value in this connection. They must be reduced to nitrites by bacteria in the meat or curing solution, or by the meat itself, for the latter are the active color fixers. During recent years, evidence has accumulated to indicate that nitrites may function also to some extent as preservatives. The conversion must be sufficient, however, to give good color fixation. In order to accomplish this, it is good bacteriological practice to seed the new vat of meat and curing solution with a gallon or two of liquor from a vat in which good conversion has taken place. This may be unnecessary in a plant where curing has been carried on successfully for years for the apparatus may carry a sufficient number of desirable nitrate reducing bacteria.

It is difficult to find results of experiments on the effect of sodium nitrate on bacteria, and many of those which are available are not directly applicable to problems related to meat curing. Statements appear in books to the effect that the nitrate is reduced to nitrite, the latter compound exerting a detrimental effect on bacteria. Crespolani (1) mixed 1 gram of potassium nitrate with 300 grams of horse flesh and reported that putrefraction resulted with complete reduction of the nitrate. According to Serafini (2) a 5 per cent solution of nitrate exhibited very little antiseptic action. Pettersson (3) reported that meat and fish with from 5 to 15 per cent of saltpeter putrified when kept at 25° C. However, it was shown that mixtures of small amounts of saltpeter and salt were active antiseptics. MacNeal and Kerr (4) as a part of an extensive investigation on the influence of saltpeter on the nutrition and health of man with reference to its occurrence in cured meat, studied the effect of sodium nitrate on bacteria. It is unfortunate that they did not use strains of bacteria which were of greater significance in the meat preservation industry. They used Bacterium coli, Clostridium welchii and an unidentified Bacillus "Type VIII". They found that potassium nitrate in neutral or alkaline solutions exerted no special restrictive effect on bacterial activity. Under these conditions it was used as a food. In acid solutions, however, the results were quite different. A marked bacterial inhibition was noticed. They said that this effect was incomparably greater than that of the corresponding chloride and was best ascribed to the production of small amounts of nitric acid, and of nitrous acid also, in mixtures containing reducing sub-

stances. Potassium nitrate was therefore considered to be particularly effective in restricting acid fermentation of organic substances already slightly acid. They further believed that the claim of meat packers that small amounts of nitrate in meat pickle produced better preservation of the meat, was borne out by their results. It seemed that nitrate was especially valuable in preventing high degrees of acidity or souring of meat. MacNeal and Kerr stated that the effect of saltpeter was probably due to the oxidizing action of the nitrate ion in the presence of hydrogen ion. Stadler (5) gave a formula for a curing mixture which consisted of 250 grams of salt, 10 grams of saltpeter, 30 grams of sugar, and one-half of a glass of red wine. He believed that the sugar and saltpeter functioned only as a color fixative.

In relatively high concentrations, sodium nitrate may have a deliterious effect on bacteria according to Lewis and Moran (6), who found that 4.4 per cent of this salt was completely effective in checking the proteolytic activity of Clostridium putrifaciens in pork infusion medium. This organism did not reduce nitrate to nitrite so there was no germicidal effect of the latter. A specific effect was exerted on the proteolytic activity of Clostridium sporogenes between the concentrations of 0.5 per cent and 1.0 per cent of sodium nitrate. When salt was present, a combination of five per cent sodium chloride and one per cent of sodium nitrate inhibited proteolysis by this organism. This large amount of nitrate required to inhibit bacterial action would indicate that saltpeter alone could have little significance in meat curing and preservation.

Lehmann (7) and Hoagland (8) found that the nitrate, as such, did not influence the color, but that it had to be reduced to nitric oxide in the meat. The red color was said to be due to nitric oxide hemoglobin which is formed by the action of nitric oxide on hemoglobin. In a later publication, Hoagland (9) reported confirmation of his earlier work. A much later contribution was made by Bernheim and Dixon (10), who, in attempting to determine the nature of the oxidation-reduction systems in tissues, found that muscular tissue of oxen, sheep, pigs, rabbits, dogs, and chickens would not reduce nitrate to nitrite. The same kind of tissue obtained from rats and guinea pigs possessed this power. Liver tissue was found to be capable of this reduction regardless of the species from which it was taken. This would seem to indicate that some factor other than the meat itself was responsible for the reduction of nitrate to nitrite in cured beef and pork.

Experimental.

Pork Infusion. Tubes of pork infusion medium were inoculated with approximately $^1/_4$ c.c. of detoxified, diluted spore suspensions. The cultures, from which the inoculum was prepared in this case, were growing in egg-meat medium. The inoculated tubes were incubated at 37° C. For two weeks and than at room temperature until the end of the incubation period.

Twelve strains of anaerobic spore-forming bacteria were used in this experiment: Clostridium botulinum type A, 2 strains; Clostridium botulinum type B, 5 strains; Clostridium putrificum, 2 strains; and Clostridium sporogenes, 3 strains. Growth was determined by the presence of gas, disintegration of the pellet of meat, and odor. Toxin formation was determined for the

Clostridium botulinum cultures by feeding portions of the contents of each tube to guinea pigs.

Six lots of the medium were prepared. One did not contain sodium nitrate, while the others received the following concentrations by weight: 0.5916%, 0.798%, 0.936%, 1.123%, and 1.495%. Uninoculated tubes, which had been incubated along with the rest, were analyzed at the end of the experiment for the content of sodium nitrate. The values found were: 0.83%, 1.106%, 1.6601%, 2.2135%, and 2.2135%. The differences between the amount added and the amounts shown to be present by analysis are probably explained by the presence of nitrates in the medium itself and by evaporation during prolonged sterilization.

All strains of test organisms grew equally well in all of the concentrations of sodium nitrate with the exception of one, Clostridium putrificum. It did not grow in one of the 2.2135% tubes but did in the last tube with this amount of nitrate. The amounts of sodium nitrate included in this experiment did not inhibit toxin production to any noticeable degree. The characteristic poison was formed by all Clostridium botulinum strains throughout the entire range of sodium nitrate concentrations.

Plain Broth. The results with pork-infusion medium caused higher concentrations of sodium nitrate to be used in this medium: 1.554%, 1.7993%, 1.931%, 2.1233%, and 2.495% by weight. The test medium was inoculated in the same manner as in other experiments. The inoculated tubes were incubated for two weeks at 27° C. and then at room temperature. Readings were taken at intervals extending over several months. Nitrate determinations were made on the uninoculated tubes from each lot of the medium at the end of the experiment and showed 2.213%, 2.213%, 2.689%, 4.427%, and 4.427% of sodium nitrate.

Only Clostridium botulinum cultures were used in this experiment. They were: Clostridium botulinum type A, 2 strains; and Clostridium botulinum type B, 5 strains. Clouding of the medium was taken as the criterion of growth rather than gas production, as the cultures growing in broth without nitrate show little or no gas. Guinea pigs were fed portions of the contents of each tube in order to detect the presence of toxin.

The micro-organisms tested grew quite irregularly under the conditions of this experiment. All of the cultures failed to show evidences of growth in the lowest concentration of the series. This represented 1.5546% of added sodium nitrate or 2.213% by analysis. Five of the seven cultures grew in the next higher concentration (1.7993% of added sodium nitrate) and six of them grew in the third concentration (1.931%). However, but one of the strains (Type B) showed visible growth in the last two concentrations. No reason is known for this apparent inhibition by the lowest concentrations. One culture (type B, culture 5) showed no evidence of growth in any of tubes containing sodium nitrate. Perhaps it is a significant fact that this was the only Clostridium botulinum culture which was capable of reducing nitrate to nitrite. However, this strain did not seem to be especially sensitive to sodium nitrite in various culture media.

The toxicity data also showed irregularities by the appearance of "skips". However, it is interesting to observe that the first concentration which apparently inhibited growth of all the cultures, did not effect the

production of toxin. All seven of the cultures in this concentration proved lethal for guinea pigs. The fifth concentration, representing the largest amount of added sodium nitrate, prevented five of the seven cultures from forming toxin, but two of the strains proved fatal for pigs when a portion of the culture containing this amount was fed to them.

Egg-Meat Medium. The nutrient material used in this experiment was egg-meat medium to which had been added the following concentrations of sodium nitrate; 0.51%, 0.708%, 0.878%, 1.19%, and 1.41%. At the end of the experiment, the amount of sodium nitrate present was determined by colorimetric determination on the uninoculated controls. It was found that the concentrations were: 0.664%, 1.3281%, 1.3834%, 1.6601%, and 2.2135%. Thirteen strains of putrefactive anaerobes were used in this experiment: Clostridium botulinum type A, 2 strains; Clostridium botulinum type B, six strains; Clostridium putrificum, two strains, and Clostridium sporogenes, three strains. Approximately $^1/_4$ c.c. of heated spore suspension was used to inoculate each of the tubes. They were then incubated at 37° C. for two weeks and after that at room temperature. Readings were made at intervals over a period of several months. Gas formation, digestion of the protein, and a rancid or putrid odor were the criteria of growth. The presence of toxin in the Clostridium botulinum cultures was determined by feeding portions of the contents of each tube to a guinea pig.

Showing the Effect of Sodium Nitrate on Spore Forming Anaerobes in Plain Broth.

	Sodium Nitrate Concentration which inhibited Growth per cent	Sodium Nitrate Concentration which inhibited Toxin Formation per cent
Clostridium botulinum, Type A	4.427	3.689
,, ,, ,, ,,	4.427	4.427
,, ,, ,, B	2.213	4.427
,, ,, ,, ,,	4.427	[1]
,, ,, ,, ,,	4.427	[1]
,, ,, ,, ,,	4.427	4.427
,, ,, ,, ,,	not inhibited by 4.427	4.427

[1]) No inhibition by 4.427% sodium nitrate.

None of the concentrations of sodium nitrate used affected the growth of these organisms in egg-meat mixture. Clostridium botulinum type B (culture 5), failed to grow in the tubes containing 1.6601% sodium nitrate, but the cultures proved toxic when fed to pigs. On the other hand, Clostridium botulinum type A (culture 11 and Clostridium botulinum type B (culture 9) grew in the highest concentration (2.2135%) but the cultures were not toxic when fed to guinea pigs.

Glucose Agar: We include here a few data collected by Mr. William Burrows during the year 1930. Churchman's divided plates were used, one half of the plate containing agar plus sodium nitrate and the test organism, and the other half, the control, ordinary glucose agar and

the test organism. The strains used in this experiment were: Clostridium botulinum type A, 3 strains; Clostridium botulinum type B, cultures 6 strains; Clostridium putrificum, 2 strains; and Clostridium sporogenes, 3 strains. Anaerobiosis was secured by placing the plates in museum jars and consuming the oxygen with yellow phosphorus according to Varney's (11) method.

The concentrations of sodium nitrate used were 3.6%, 4.2%, 4.8%, 5.4%, 6.0%, 6.6%, 7.2%, 7.8%, 8.4%, and 9.0%.

It was found that 6.6 per cent of sodium nitrate was required to completely inhibit all of these organisms on the divided plate. One strain of Clostridium putrificum (culture 13) and two strains of Clostridium sporogenes (cultures 11 and 14), grew in agar containing 6.0% of sodium nitrate, but failed to do so in 6.6% sodium nitrate. On the other hand, three of the strains failed to grow in any but the lowest concentration used. These were Clostridium botulinum type B, cultures (7, 9 and 15).

The conditions affecting the concentration of sodium nitrate are the same in this experiment as in the corresponding one involving sodium chloride. The actual concentrations were probably higher than the figure given indicates, but diffusion of the sodium nitrate into the agar on the other side of the plate might tend to lower the concentration near the border-line.

The three experiments with low concentrations of sodium nitrate would indicate that this compound when used alone, can not be said to have an inhibitory effect upon the organisms used in these experiments, at least in concentrations up to two per cent. Concentrations between 2% and 4.5% of sodium nitrate were observed to show some inhibition in plain broth, but this effect was so irregular that it was difficult to reach conclusions. However, the highest concentration used with this medium was 2.495% of added sodium nitrate which gave 4.427% upon analysis. This concentration inhibited growth in six out of seven strains (as did the second highest concentration) and inhibited toxin production in five out of seven strains.

According to Burrow's experiment, the effective concentration of sodium nitrate is about the same as that of sodium chloride. With sodium nitrate, three out of fourteen cultures grew on both sides of the plates containing six per cent of sodium nitrate, but the next higher amount of this salt 6.6% sodium nitrate inhibited all strains. This is not in agreement with the work of Lewis and Moran (6) who found that 4.4% of sodium nitrate was effective under the conditions of their experiments. However, these conclusions were reached with a single strain, which might not have been as resistant to the action of sodium nitrate as other strains. Mr. Burrows found that three cultures of Clostridium botulinum type B were inhibited by 4.2% of more of sodium nitrate. The conditions under which such experiments are carried out probably influenced the results.

Lewis, Vose and Lowrey (12) in the analysis of fresh curing solutions, give a sodium nitrate concentration of 0.66% and a concentration of 2.22% for the pumping solution. The results obtained by Lewis, and Moran, and Burrows, together with the results obtained in the experiments reported in this paper, indicate that sodium nitrate, if used alone, cannot be relied upon to inhibit putrefactive anaerobes including

Clostridium botulinum, Clostridium putrificum, and Clostridium sporogenes in concentration as low as this if other conditions are favorable for growth. Indeed, Burrow's work indicates that over six per cent is required to inhibit some strains of these organisms when grown in glucose agar.

It should be pointed out that curing solutions do not contain sodium nitrate alone and that pure culture experiments do not take into consideration the conditions which occur in the curing vat. Fresh meat when it goes into the vat carries many bacteria. Therefore, curing is not a pure culture matter. Furthermore, the low temperature of the curing room would probably inhibit reactions which might take place at room temperatures.

It was observed in these experiments, as was also reported in a former paper (13) that sufficient toxin to kill guinea pigs was frequently found in cultures with no evidences of growth. This may be due to the difficulties in determining growth as well as the method by which toxin is formed. Visual inspection of culture tubes might not reveal slight growth even though an appreciable number of cells had been formed. Another explanation is that toxin formation might not always be connected with growth. This has been noticed by others Dozier (14), Coleman and Meyer (15) and Thom, Edmondson and Giltner (16).

It seems more reasonable to us to believe that if toxin was demonstrated to be present growth had occurred. Demonstration of the presence of toxin might then be taken as a more delicate indication of growth than the results of visual inspection of the culture tubes. This view seems to be borne out quite well by the observations that these cases occur on the borderline of detectable growth.

Conclusions.

1. Sodium nitrate in concentrations of 0.664% to 2.2135 per cent did not inhibit any of the Clostridium botulinum types A and B, Clostridium putrificum, or Clostridium sporogenes used in these experiments when pork infusion medium or egg-meat are used as the substrates.

2. Concentrations of sodium nitrate from 2.213—4.427% by analysis showed irregular inhibition of seven Clostridium botulinum cultures. The highest concentration prevents growth of six out of seven toxin formation by five out of seven of these strains.

3. The data and conclusions presented in this paper do not concern the use of saltpeter in combination with other substances used in meat curing solutions. It also probable that different numbers of cells used in the inoculum might influence the results.

Bibliography.

1. Crespolani, E., Wie verhält sich Kaliumnitrat bei der Fäulnis, in bezug auf die Toxikologie der Salpetersäure und der Nitrate. (Boll. Farm. Vol. 44. 1905. p. 697—700; Chem. Zentralbl. Abt. II. Bd. 76. 1905. S. 1811.) — 2. Serafini, A., Chemisch-bakteriologische Analysen einiger Wurstwaren. Ein Beitrag zum Studium der Nahrungs-Konservierung. (Arch. f. Hyg. Bd. 13. 1891. S. 173—206.) — 3. Pettersson, A., Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fleisch und Fisch mit Salzen. (Berlin. Klin. Wochenschr. Nr. 42. 1899. S. 915.) — 4. MacNeal, W. J., and Kerr, J. E., The Influence of Potassium Nitrate on the Action of Bacteria and Enzymes. Chap. 9 in Vol. 2: Studies in Nutrition. On Investigation of the Influence of Saltpeter on the Nutrition and Health of Man with Reference to

Its Occurrence in Cured Meats. p. 358—389. Univ. of Illionis. (Complete results in 5 volumes.) — 5. Stadler, E., Über die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, die bei den sog. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. (Arch. f. Hyg. Bd. 35. 1890. S. 40.) — 6. Lewis, W. L., and Moran, J. A., The Present Status of Our Knowledge of Ham Souring. Ham Souring Bulletin IV. Inst. Amer. Meat. Packers, Chicago. — 7. Lehmann, Sitzungsber. Physiol. Med. Ges. Würzburg. Bd. 4. 1899. S. 57. — 8. Hoagland, R., The Action of Saltpeter Upon the Color of Meat. (U. S. Dept. Ag., Ann. Rept. Bureau of Animal Industry for 1908. Vol. 25. 1910. p. 301—314.) — 9. Hoagland, R., Coloring Matter of Raw and Cooked Salted Meats. (Journ. Agr. Res. Vol. 3. 1914. p. 211—226.) — 10. Bernheim, F., and Dixon, M., The Reduction of Nitrates in Animal Tissues. (Biochem. Journ. Vol. 22. 1928. p. 125.) — 11. Varney, P. L., Recent Developments in The Construction and Operation of the Phosphorus anaerobic jar. (Amer. Journ. Publ. Health. Vol. 19. 1929. p. 1248—1249.) — 12. Lewis, W. L., Vose, R. S., and Lomry, C. D., Use of Sodium Nitrite in Curing Meat. (Industr. a. Engl. Chem. Vol. 179. 1925. p. 1243 —1245.) — 13. Tanner, F. W., and Evans, F. L., Effect of Meat Curing Solutions on Anaerobic Bacteria. I. Sodium Chloride. (This Journal. 1933.) — 14. Dozier, C. C., Inhibitive Influence of Sugars and Salt on Viability, Growth, and Toxin Production by B. Botulinus. XVII. (Journ. Inf. Dis. Vol. 35. 1924. p. 135—155.) — 15. Thom, C., Edmondson, and Giltner, L. T., Botulism from Canned Asparagus. (Journ Amer. Med. Assoc. Vol. 73. 1919. p. 907.) — 16. Coleman, G. E., and Meyer, K. F., Some observations of The Pathogenicity of Bacillus botulinus. (Journ. Inf. Dis. Vol. 31. 1922. p. 622—649.)

Zur Frage über psychrophile Mikroben.

[Aus dem wissenschaftlichen Kälte-Industrie-Institut in Leningrad.]

Von Prof. Dr. **L. M. Horowitz-Wlassowa** und **L. D. Grinberg.**

Die Angaben über psychrophile oder kriophile Mikroben, d. h. Bakterien, Hefe- und Schimmelpilze, die imstande sind, bei 0° und niedrigeren Temperaturen zu gedeihen, sind in der Literatur spärlich. Diese Frage dürfte aber in verschiedener Hinsicht von Wichtigkeit sein, vor allem bei den Vorgängen der Selbstreinigung der Gewässer und des Bodens im kalten Klima, und denen, die sich auf den Rieselfeldern abspielen, ferner für die Kälteindustrie, die mit dem Aufbewahren der Nahrungsmittel zu tun hat. Werden die letzteren monate- oder sogar jahrelang in kalten Räumen aufbewahrt, so tritt die Frage über die mögliche Rolle solcher Mikrobenarten beim Verderben der Waren in den Vordergrund.

Die erste Erwähnung über die Arten, die bei 0° sich vermehren können, finden wir in 1887. — Forster (1) konnte das Wachstum einiger leuchtender Bakterien bei 0° beobachten. Fischer (2) in 1888 fand im Wasser des Kieler Hafens fünf psychrophile Arten und im gefrorenen Boden neun Arten, darunter fluoreszierende Stäbchen und verschiedene Schimmelpilze. Schmelk (3) wies den B. fluorescens liquefaciens in Gletschern in Norwegen nach. Forster in 1892 (4) erweiterte diese Beobachtungen und lenkte die Aufmerksamkeit auf die vermutliche Rolle solcher Arten bei der Aufbewahrung des Fleisches in Kühlräumen. Schmidt, Nielsen und Sigval (5) haben in 1902 eine Anzahl von Arten beschrieben, die fähig sind, wenn auch sehr langsam, bei 0° zu wachsen, die Mehrzahl dieser Arten gehört zu den fluoreszierenden Stäbchen, Hefen und Aktinomyceten. Pathogene Bakterienarten dagegen, wie Vertreter der

Coli-Typhus-Gruppe, Choleravibrionen, Milzbrandbazillen ergaben während 60 Tagen kein Wachstum. Müller (6) hat aus den Nahrungsmitteln, die bei 0° aufbewahrt worden waren, eine reichliche Mikroflora gezüchtet: 36 Arten von Bakterien und Schimmelpilzen, deren Temperaturoptimum aber bei 20° liegt, so daß der Verf. mit Recht die Bezeichnung „psychrophil" als unpassend betrachtet und die Benennung von Forster „Glaciale Bakterien" bevorzugt. Der Vergleich des Wachstums von fünf Arten bei fünf verschiedenen Temperaturen ergab, daß bei 0° die Vermehrung 17—36 mal langsamer vor sich geht als bei 25°. Proteolytische Arten, wie B. fluorescens liquefaciens, übten ihre Wirkung auch bei 0° aus, wenn auch viel langsamer. In einigen Fällen schien der Aufenthalt bei niederen Temperaturen die spätere Vermehrung bei höheren Temperaturen zu fördern. Leider blieben diese wertvollen Beobachtungen in der Praxis beim Aufbewahren der Nahrungsmittel in Kühlräumen ohne Berücksichtigung.

Issatchenko (7) fand im gefrorenen Boden verschiedene denitrifizierende, N-bindende, H_2S-bildende u. a. Arten. Derartige Befunde wurden auch von Conn (8), Severin (9), Omelianski (10), Haveman (zitiert nach Müller), Rubentschik (11) u. a. beschrieben. Der letztere Verf. hat in seinen Untersuchungen über die Mikroflora der Rieselfelder eine Anzahl von Arten reingezüchtet, die imstande sind, bei 0° und sogar noch bei — 3° Fäulnis, Vergärung des Harnstoffes, Denitrifikation usw. hervorzurufen. Er konnte dabei feststellen, daß alle diese Vorgänge bei diesen Temperaturen 10—20 mal langsamer verlaufen, als bei 20°.

Redford (12) soll die Vermehrung auf der Haut von Fischen beobachtet haben, die 16 Monate bei —11° aufbewahrt worden waren. Haines (13) berichtet über die Vermehrung der Aktinomyceten bei 0° und niedrigeren Temperaturen. Zahlreiche Angaben über die Vermehrung der Bakterien und Pilze in gekühltem und gefrorenem Fleisch und anderen Nahrungsmitteln finden wir bei Prescott (14), Schmidt (15), Smith und Tomkins (16), Brooks und Hausford (17), Monvoisin (18), Talayract (19), Haines (20).

Unsere Untersuchungen beziehen sich auf die Mikroflora der Luft der Kammern, wo die Temperatur 0°, — 3° und — 7° war. Es soll hier darauf hingewiesen werden, daß die übliche Methodik, d. h. Öffnen der Fleisch- oder Würzeagar-Platten im betreffenden Raume oder das Durchsaugen bestimmter Mengen der Luft durch ein bestimmtes Volumen des sterilen Wassers sich für die Untersuchungen bei — 7° als unzuverlässig erweist, da die Nährsubstrate und manchmal auch das Wasser des Aspirators häufig gefrieren. Es soll hier bemerkt werden, daß diese letztere Erscheinung höchst unregelmäßig auftritt, so daß unter mehreren in der Kammer gelassenen Röhrchen mit Fleischagar einige sich als gefroren erweisen, die anderen dagegen weisen keine Änderung auf. Scheinbar wird die Bildung der Eiskrystalle von mehreren, kaum meßbaren Bedingungen beeinflußt, wie der Dicke der Agarschicht, der Menge des Kondensationswassers, der Schnelligkeit der Kühlung, des Zustandes der Ruhe oder leichten Schüttelns usw. Flüssige Nährsubstrate, wie Fleischbrühe, bleiben meistens tagelang flüssig bei 0° und sogar bei — 3°; der Fleischagar in Platten erleidet bei 0° meistens keine Änderungen, bei — 3° dagegen und selbstredend bei niedrigen Temperaturen wird es bald in Eis verwandelt. Um dieser unerwünschten Erscheinung vorzubeugen,

verwendeten wir für Versuche bei — 3° Agar mit 3% NaCl, bei — 7° mußte der NaCl-Gehalt bis 5% erhöht werden; in diesen Fällen wurde natürlich die Wirkung dieses NaCl-Gehaltes auf die Vermehrung der betreffenden Arten in parallelen Versuchen bei höheren Temperaturen geprüft. Die Tatsache der vorhandenen Vermehrung der Keime in der Kammer, wo die Temperatur — 2,5° betrug, wurde direkt bei der folgenden Versuchsanstellung festgestellt: es wurden zwei geöffnete Platten desselben Durchmessers im Kühlraume 20 Min. stehen gelassen, deren eine 50 ccm Fleischbrühe, deren andere — Fleischagar enthielt. Darauf wurde die Zahl der Keime, die während dieser Zeitspanne in die Platten gelangt waren, in üblicher Weise (durch Zählung der nach drei Tagen bei Zimmertemperatur auf Agar entwickelten Kolonien) bestimmt; die Platte mit der Fleischbrühe dagegen wurde mit dem Deckel verschlossen und noch zehn Tage im Kühlraume gelassen; darauf wurde die Zahl der Keime in der Gesamtmenge der Flüssigkeit durch Aussaaten auf Agarplatten bestimmt. Es erwies sich, daß die ursprüngliche Zahl — 35 indessen bis 2350 gestiegen war, mit anderen Worten, es war eine deutliche Vermehrung aufgetreten. — Eine Anzahl der aus der Luft der Kühlkammern gezüchteten Arten wurde monatelang in diesen Kühlkammern gezüchtet und alle 5—7 Tage in bezug auf das sichtbare Wachstum kontrolliert. Die Tabelle 1 gibt die Resultate dieser Beobachtungen wieder: + bedeutet ein schwaches, doch mit bloßem Auge sichtbares Wachstum, ++ ziemlich gutes, +++ besagt, daß das Wachstum von dem bei 22—37° nicht zu unterscheiden ist. Bei 0° wurde der übliche Fleischagar verwendet, bei — 3° der Fleischagar mit Zusatz von 3% NaCl, bei — 7° der mit 5% NaCl. Die verlangsamende Wirkung des Zusatzes von NaCl ist für die halophilen Arten, wie die meisten grampositiven Kokken, Schimmelpilze, die Subtilis-Gruppe, unbeträchtlich, sie ist dagegen bedeutend für die Arten, wie B. fluorescens liquefaciens Proteus u. a., die schon bei 7% NaCl kaum gedeihen, deswegen ist die Verwendung der NaCl-Nährsubstrate für diese Arten nur bis — 3° zuverlässig (d. h. bei den Verhältnissen, wo der Zusatz von 3% NaCl ausreicht): der NaCl-Zusatz verlangsamt das Wachstum um 2—3 Tage für Micrococcus albus liquefaciens und M. erythromyxa, 12—15 Tage für B. fluorescens liquefaciens, Proteus, B. viscosus sacchari usw.

Tabelle 1.

Bezeichnung der Art	Temperatur des Raumes °C	Intensität des Wachstums	Die Zahl der Tage, die für das betreffende Wachstum erforderlich sind
M. albus liquefaciens	0	+	6
„ „ „	0	+++	12
„ „ „	— 3	++	10
„ cerens albus	0	++	10
„ candicans	— 3	+++	10
„ aquatilis	0	+	13
„ „	0	++	19
„ „	0	+++	26
„ flavus liquefaciens	— 3	++	10
„ „ „	— 3	+++	18
„ citreus agilis	— 3	+	10
„ citreus	— 3	+++	10

Bezeichnung der Art	Temperatur des Raumes °C	Intensität des Wachstums	Die Zahl der Tage, die für das betreffende Wachstum erforderlich sind
M. aurantiacus agilis	0	+++	22
„ aurantiacus	0	+	7
„ „	— 3	+	10
„ „	— 7	+	> 60
„ sulfureus	0	+++	18
„ „	— 7	+	112
„ „	— 7	++	136
„ cereus flavus	0	+++	26
„ erythromyxa	0	+++	27
„ „	— 3	+	28
„ chlorinus	0	+++	27
„ „	— 3	+++	58
Pseudosarcina agilis	0	+++	9
„ „	— 3	+	36
„ „	— 3	+++	46
B. subtilis	0	+++	27
„ „	— 3	++	10
„ mesentericus	— 3	+	28
„ „ roseus	0	+++	30
„ „ „	— 3	+	18
„ megaterium	0	++	12
„ „	— 3	++	24
„ lineatus	0	++	35
„ „	— 3	+	> 82
„ fluorescens liquefaciens	0	+++	26
„ „ „	— 3	+	16
„ „ „	— 3	+++	30
„ subtyphosus	0	+	16
„ „	0	++	35
„ „	0	+++	60
„ „	— 3	+	> 53
„ annulatus	0	+++	23
„ „	— 3	++	43
„ liquefaciens	0	+++	25
„ „	— 7	+	60
„ flavocoriaceus	0	++	12
„ „	0	+++	27
„ proteus zopfii	0	+	32
„ „ „	0	+++	42
„ proteus Zenkeri	0	+++	12
„ „ „	— 7	+	60
„ viscosus ochraceus	0	+++	23
„ „ „	— 7	+	60
„ viscosus sacchari	0	+++	23
„ pyocyaneus	0	++	30
„ cloacae	0	+	7
„ „	0	+++	15
„ luteus pallescens	0	+	> 35
„ „ „	0	+++	78
„ aureoflavus	0	+++	18
Torula alba	— 3	+++	10
„ rosea	0	+++	4
Saccharomyces cer.	— 3	+++	10
Mucor racemosus	0	+	12
„ „	0	++	23
„ „	— 3	+	35
„ „	— 3	+++	> 68

Bezeichnung der Art	Temperatur des Raumes ° C	Intensität des Wachstums	Die Zahl der Tage, die für das betreffende Wachstum erforderlich sind
Cladosporium herb.	— 3	+ + +	26
Penicillium	— 3	+	28
Mittelwerte für 12 Stämme . . .	— 3	+ +	47—55
	— 3	Sporenentw.	> 60
	0	+	10
	0	+ +	22
	0	Sporenentw.	35

Aus diesen Angaben ist ersichtlich, daß verschiedenartige Mikroorganismen, wie grampositive Kokken, sporogene und asporogene Stäbchen, Schimmelpilze und Hefen bei 0°, — 3° und einige sogar bei — 7° zur Entwicklung kommen. Es soll hier hervorgehoben werden, daß alle diese Arten ein ziemlich hohes Temperatur o p t i m u m (20° und sogar 37°) haben; es liegt darum der Gedanke nahe, daß es sich in diesen Fällen um eine erworbene Eigenschaft handelt. Die Bezeichnung „psychrophil“ oder „kriophil“ ist demgemäß kaum richtig (ebenso wie die analoge Bezeichnung „Halophil“), es wäre richtiger, in diesen Fällen von der Psychrotoleranz zu reden. (Um nicht neue Benennungen zu schaffen, haben wir auf dem Gebiete der Halophilie die Bezeichnung „halophil“ für diejenigen Arten bewahrt, die auf Nährmedien mit hohem NaCl-Gehalt ebensogut wie auf den üblichen Nährsubstraten gedeihen; diejenigen dagegen, die ohne erhöhten NaCl-Gehalt gar nicht zur Entwicklung kommen, wurden Halobe genannt, vgl. Aërobe, Saprobe usw.) Auf dem Gebiete der Psychrophilie kann wohl die Bezeichnung „psychrophil“ in demselben konventionellen Sinne erhalten bleiben; echte „Psychrobe“ dagegen sind bis jetzt unbekannt.

Um den Beweis zu liefern, daß die Psychrophilie tatsächlich eine erworbene Eigenschaft ist, haben wir zahlreiche Versuchsserien angestellt, die in folgende Gruppen eingereiht werden können: 1. Versuche über den Einfluß des langen Aufenthaltes der Keime bei niederen Temperaturen auf ihre Psychrophilie, 2. Passage bei sinkenden Temperaturen, 3. Überimpfungen bei einer bestimmten niederen Temperatur, wie 0° und — 3°.

Tabelle 2.

Bezeichnung der Art	Zeitspanne seit d. Reinzüchtung aus der Luft in Monaten	Temp. des Versuches ° C	Zahl der Tage bis zur Entwicklung des Bodens	
			des Kammerstammes	des Zimmerstammes
M. citreus.	7	— 4	22	30
„ „ agilis	6	— 4	19	30
„ „ „	6	0	7	15
„ erythromyxa	6	0	9	30
Pseudosarcina	5	0	9	9
„	5	— 4	19	19
M. chlorinus	6	— 4	19	19
B. subtilis	4,5	— 4	9	85
„ mesentericus	6	— 4	19	30
„ lineatus	5	0	23	23
Torula alba	6,5	— 4	22	28
B. luteus pallescens . . .	3	0	45	100

Die Tabelle 2 faßt einige der Versuche der ersten Serie zusammen: die betreffenden Arten, die aus der Luft der Kammern mit 0° und — 4° reingezüchtet worden sind, wurden einerseits bei derselben Temperatur, andererseits bei Zimmertemperatur überimpft; nach einem bestimmten Zeitraume wurde ihr Wachstum bei 0° und — 4° verglichen. Es erweist sich tatsächlich, daß die „Kammerstämme", d. h. die schon seit Monaten bei niederen Temperaturen gelebt hatten, in Vergleichsversuchen rascher zur Entwicklung kamen, als die „Zimmerstämme" derselben Arten.

In demselben Sinne wirkt der vorläufige Aufenthalt bei 0°; nach einer solchen Passage erscheint das Wachstum bei niedrigeren Temperaturen frühzeitiger, wie aus der Tabelle 3 ersichtlich ist.

Tabelle 3.

Bezeichnung der Art	Ohne Passage bei 0° C		Nach der Passage bei 0° C	
	Zahl d. Tage, die für d. Wachstum erforderl. waren	Intensität d. Wachstums bei — 3°	Zahl d. Tage, die für d. Wachstum erforderl. waren	Intensität d. Wachstums bei — 3°
M. citreus agilis . .	29	+	13	+++
,, aurantiacus . .	29	+	19	+++
,, chlorinus . . .	29	+	10	+++
,, ,, . . .	58	+++		
.. erythromyxa . .	29	+	13	++
B. mesentericus . .	29	+	13	+++

Es geht aus diesen Angaben hervor, daß der monatelange Aufenthalt bei 0° tatsächlich die Fähigkeit dieser Arten, sich bei — 3° zu vermehren, in nicht unbeträchtlicher Weise erhöht.

Noch beweiskräftiger sind die Versuche mit den Arten, die anfänglich bei — 7° während drei Monaten nicht zur Entwicklung kamen und doch bei dieser Temperatur nach vorherigen Passagen bei 0° und — 3° gediehen, wie aus der Tabelle 4 ersichtlich ist.

Tabelle 4.

Bezeichnung der Art	Aufbewahren bei 0° C in Tagen	Zahl der Überimpfung bei 0° C	Aufbewahren bei — 2 bis 4° C	Zahl der Überimpfung bei — 2 bis 4° C	Zeitspanne der zur Entwicklung bei — 7° C nötigen Tage	Intensität des Wachstums bei — 7° C
M. albus liquefaciens . .	—	—	133	4	80	+++
,, flavus liquefaciens . .			133	2	52	+++
,, citreus	—	—	133	4	80	+++
,, aurantiacus agilis . .	—	—	60	1	71	+++
,, aurantiacus	—	—	40	1	27	+
,, cereus flavus	—	—	22	1	60	+
,, citreus agilis	160	6	15	1	60	++
,, erythromyxa	165	6	49	1	35	++
Pseudosarcina	126	3	28	1	36	++
B. megaterium	150	4	15	1	37	+++
,, mesentericus	160	3	15	1	38	+++
,, fluorescens liquefaciens	—	—	194	2	60	+++
,, liquefaciens	36	1	13	1	30	++
,, flavocoriaceus	41	1	38	1	21	++

Die Überimpfungen bei einer bestimmten niederen Temperatur wirkten in demselben Sinne; so ergaben z. B. B. citreus agilis, B. aurantiacus, B. chlorinus, B. erythromyxa, B. mesentericus bei 0° ein sichtbares Wachstum anfänglich erst nach 20—26 Tagen, bei der zweiten Impfung schon nach 13 Tagen, in der dritten Generation nach 10 Tagen; für B. lineatus waren die betreffenden Zeiträume 35 und 23 Tage, für B. luteus pallescens 78 und 45 Tage. Eine Anzahl von Penicillium-Stämmen, die anfänglich bei — 3° erst nach 47—55 Tagen Mycel und während zwei Monaten keine Sporen bildeten, ergaben in der zweiten Generation ein gutes Wachstum schon nach 30—39 Tagen und kamen am Ende des zweiten Monats zur Sporenbildung.

Was nun den Einfluß der niederen Temperaturen auf morphologische und physiologische Eigenschaften der Mikroben anbetrifft, so sind unsere Kenntnisse darüber überhaupt ziemlich spärlich. Unsere eigenen Beobachtungen zeigen, daß in diesen Verhältnissen verschiedenartige Änderungen auftreten können. So bildet der B. liquefaciens bei — 7° lange gewundene Fäden mit Involutionsformen; B. flavocoriaceus wächst bei — 4° in langen geraden Fäden, B. mesentericus wird kürzer und bildet keine Sporen, die Kokken weisen die Neigung zur Sarcinaform auf, bei einigen Kokken läßt sich ein eigenartiges Plasmoptysebild beobachten (M. aquatilis u. a.). Zahlreiche Arten dagegen, wie B. megaterium, B. aquatilis luteus, B. albus liquefaciens, Micr. ochraceus, M. citreus wachsen bei — 4° und auch bei — 7°, ohne merkliche Änderungen aufzuweisen. In bezug auf physiologische Merkmale sei bemerkt, daß niedere Temperaturen die Pigmentbildung zu fördern scheinen, so erweisen sich die Kulturen des Micr. citreus, M. chlorinus, M. roseus, M. erythromyxa bei — 4° und — 7° als intensiver gefärbt.

Ein besonderes Interesse beansprucht die Frage der chemischen Leistungen der Mikroben bei niederen Temperaturen, wie die proteolytische, zuckervergärende und lipolytische Wirkung.

Als proteolytische Arten wurden B. fluorescens liquefaciens, B. liquefaciens, B. subtilis, B. megaterium und Pseudosarcina agilis geprüft. Die Versuchsanstellung war die folgende: 24 Std. alte Agarkultur des aus der Luft der Kühlkammer gezüchteten Stammes wurde in 4 ccm der sterilen 0,7% Kochsalzlösung emulgiert, und 2 ccm der Emulsion in Röhrchen mit 4% und 10% erstarrter Fleischpeptongelatine eingeführt, die bei 0° und 18° aufbewahrt wurden. Die Messungen der Säule der verflüssigten Gelatine haben gezeigt, daß die Verflüssigung unter der Wirkung des B. fluorescens bei 0° vierfach langsamer verlief, als bei der Zimmertemperatur. In den Versuchen mit B. subtilis, B. megaterium und Pseudosarcina blieb die Verflüssigung bei — 4° während der viermonatelangen Beobachtung aus, obgleich das Wachstum der betreffenden Arten bei der genannten Temperatur ziemlich gut war.

Was nun den Einfluß niederer Temperaturen auf die zuckervergärende Wirkung anbetrifft, so erweist er sich in dieser Hinsicht als sehr ungünstig; einerseits sind die meisten Hefearten unfähig schon bei 0° zu gedeihen, andererseits zeigen sich sogar die Arten, die bei 0° und — 4° zur Entwicklung kommen, wie Saccharomyces Cerevisiae, B. coli, Proteus Zopfii, Proteus Zenkeri unfähig, Zucker unter Gas-

bildung in der mit B. coli geimpften Glukosebouillon bei 0° monatelang aus, während die Säurebildung auch unter diesen Verhältnissen zutage tritt. In einigen Fällen scheint der Aufenthalt bei niederen Temperaturen dagegen diese Leistung zu fördern; so stieg die Gärkraft des B. viscosus ochraceus, der aus bei — 18° gefrorenen und bei — 7° aufbewahrten Eiern reingezüchtet worden ist und nach zweimonatelangem Aufbewahren bei Zimmertemperatur die gärende Wirkung eingebüßt hatte; nach der Passage bei 0°, wo die Kulturen fünf Wochen blieben und bei nachfolgender Überimpfung bei Zimmertemperatur trat die intensive Gasbildung in der Glukosebouillon schon am nächsten Tage ein.

Die lipolytische Wirkung wurde folgendermaßen verfolgt: es wurde B. pyocyaneus auf Fleischagarplatten mit fein emulgiertem Soyaöl geimpft, wo sein Wachstum die Bildung heller Zonen in der Umgebung der Kolonien hervorruft. Bei der Zimmertemperatur traten diese hellen Zonen schon am fünften Tage ein, bei 0° dagegen, wo die Kolonien zu guter Entwicklung erst nach drei Wochen kamen, trat die Bildung heller Zonen erst am Ende des zweiten Monats auf.

Zusammenfassung.

1. Die Zahl der Mikrobenarten, die fähig sind, sich bei — 4° und sogar bei — 7° zu vermehren, ist nicht unbeträchtlich: zu diesen psychrophilen Arten gehören manche Kokken, sporogene Stäbchen, einige Hefen und eine große Anzahl Schimmelpilze.

2. Das Wachstum bei — 4° und — 7° erfolgt sehr langsam und erfordert 15—60 Tage, um mit bloßem Auge sichtbar zu werden.

3. Der Aufenthalt bei langsam absinkenden Temperaturen verleiht den Mikroben die Fähigkeit, niedrigere Temperaturen besser zu vertragen, so daß die Grenztemperatur für deren Vermehrung im Vergleich mit der anfänglichen niedriger wird.

4. Die Mikroben, die fähig sind, unter 0° zu gedeihen, bewahren teilweise ihre biochemischen Eigenschaften, wie die proteolytische und die lipolytische Wirkung; der Gärungseffekt dagegen bleibt meistens aus.

5. Es folgt aus dem Gesagten, daß die biologischen Vorgänge, die sich im Boden, in Gewässern, biologischen Anlagen usw. abspielen, auch im Winter keineswegs ausgeschlossen sind und daß auch die Mikroflora der in Kühlräumen aufbewahrten Nahrungsmittel berücksichtigt werden muß; vor allem soll die Wahl der Temperatur nicht nur von technologischen Erwägungen, sondern auch von solchen über die quantitative und die qualitative Zusammensetzung der Mikroflora bedingt werden.

Literaturverzeichnis.

1. Forster, Über einige Eigenschaften leuchtender Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. S. 337.) — 2. Fischer, Bakterienwachstum bei 0° C. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. S. 89.) — 3. Schmelz, Über Gletscherbakterie. (Zentralbl. f. Bak. Bd. 4. 1888. S. 545.) — 4. Forster, Über die Entwicklung von Bakterien bei niederen Temperaturen. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. S. 431.) — 5. Schmidt, Nielsen und Sigval, Über einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1902. Nr. 5.) — 6. Muller, Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien, sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter spezieller Berücksichtigung des Fleisches als Nahrungsmittel. (Arch. f. Hyg. 1903. S. 127.) — 7. Issatchenko, Einige Angaben über Bakterien im gefrorenen Boden (russisch). (Nachr. d. Bot. Gartens in Petersburg. Bd. 12. 1912. H. 5—6.) — 8. Conn, Bacteria in frozen soils. (Zentralbl.

f. Bakt., Abt. II. Bd. 28. 1910. S. 422.) — 9. Severin, Bakterielle Bevölkerung einiger Bodenproben aus Obdorsk und Halbinsel Jamal (russisch). (Wiestnik der Bakt. Agronom. Stat. Moskau 1909.) — 10. Omelianski, Bakteriologische Untersuchungen des Mammonth von Surach und des umgebenden Bodens (russisch). (Arch. d. Biol. Wiss. Bd. 21. 1911. S. 355.) — 11. Rubentschik, Über die Lebenstätigkeit der Bakterien der Rieselfelder bei niedrigen Temperaturen. (Zentralbl. f. Bakt. Bd. 72. 1927. Abt. II,) — 12. Redfort, Le sel employé pour combattre la décomposition des flétan. (Bull. intern. d. renseign. frigorifiques. 1932. Nr. 4. p. 17740.) — 13. Haines, L'influence de la température sur la vitesse de développement de l'actinomyces saprophytique. (Bull. intern. d. renseign. frigorif. 1932. Nr. 5—17996. p. 1087.) — 14. Prescott, Numbers of Bacteria in frozen foods. (Ice and Refrigerating. Avril 1932. p. 311.) — 15. Schmidt, Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit auf das Bakterienwachstum auf gekühltem Fleisch. (Ztschr. f. d. ges. Kälteindust. 1931, Januar.) — 16. Smith and Tomkins, Spoilage of meat in cold storis. (Journ. Cold Storage. Vol. 35 and 408. 1932. p. 56—57.) — 17. Brooks and Hausford, Mould growth upon cold stored Meat. (Brit. Mykol. Soc. Transact. Vol. 8. 1923. p. 11.) — 18. Monvoisin, Les moisissures des viandes congelées. (Rev. d. Med. Veterin. T. 94. 1918.) — 19. Talayract, Conserves des viandes par les procédés frigorifiques. (Ann. Hyg. Publ. Ser. 3. T. 45. 1901. p. 166.) — 20. Haines, The growth of microorganisms on chilled and frozen meat. (Chemistry at Industry. Vol. 50. Nr. 27. 1931.)

Ein Beitrag zur Anatomie von Piesma quadrata Fieb. unter Berücksichtigung der Bakteriensymbiose.

[Aus dem Forschungsinstitut Klein-Wanzleben, Zuckerfabrik Klein-Wanzleben, vorm. Rabbethge & Giesecke A.-G. Leiter: Dr. E. W. Schmidt.]

Von **Hubert Schneider.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts rückte die Symbiontenforschung, insbesondere auf Grund der Untersuchungen von Schottelius (15) und auf Grund der Erkenntnisse, welche die medizinische Entomologie vermittelte, in den Vordergrund des Interesses. Eine zusammenfassende Darstellung über diesen Gegenstand findet sich bei Buchner (3). Die von Schottelius im Darmtraktus des Menschen und der Wirbeltiere nachgewiesenen Bakteriensymbiosen konnten u. a. auch bei saugenden Insekten ermittelt werden. Bereits im Jahre 1899 entdeckte Heymons (8) bei einer Zikadenart (Cicada septemdecim L.) ein beiderseits im Abdomen liegendes Organ, das nach den späteren Untersuchungen an anderen Arten von Pierantoni (10/11), Šulc (16), Buchner (3) u. a. als Myzetom (früher als Pseudovitellus bezeichnet) = Symbiontenwohnstätte zu deuten ist. Auch an Wanzen konnten frühzeitig ähnliche Beobachtungen gemacht werden. Während jedoch bei den Homopteren die Symbionten sich intrazellulär finden, treten sie bei den an Pflanzen saugenden Heteropteren (7, 9) im allgemeinen nur extrazellulär in spezifischen Ausstülpungen des Mitteldarmes (Darmkrypten) auf (3, S. 10—12). Nach Glasgow (7, S. 102) beobachtete Treviranus schon im Jahre 1809 am Darmkanal von Pentatoma (Cimex) rufipes eigentümliche Anhänge. Späterhin fanden Leydig (1857) und Forbes (1882), daß diese Anhänge mit Bakterien angefüllt sind. Zunächst dachte man an Parasiten,

bis es schließlich Forbes gelang, die Symbiontennatur dieser Bakterien bei Blissus leucopterus nachzuweisen (6 u. n. Glasgow: 7, S. 102/103). Nach Buchner (3, S. 404) erweisen sich die gesamten Pflanzensäfte saugenden Homopteren ebenfalls als Symbiontenträger. Über die Bedeutung dieser Symbiose schreibt der vorgenannte Verf. (l. c.): „Es kann also gar kein Zweifel darüber bestehen, daß die geschilderten Einrichtungen (die Darmkrypten) in irgendeinem Zusammenhang mit der spezifischen Ernährung der Wirte stehen.“ Die Vermutung, daß die Symbionten einiger an der Zucker- und Futterrübe lebender Rhynchoten möglicherweise als Erreger für gewisse Viruskrankheiten wie Mosaik, curly-top und Wanzen-Kräuselkrankheit verantwortlich zu machen sind, hat erstmalig E. W. Schmidt (14) und später auch Weber (18, S. 508) ausgesprochen. Nach Rambousek (13, S. 145) gelang es im Forschungsinstitut der tschechoslowakischen Zuckerindustrie in Prag, den Beweis zu führen, „daß die übrigen Insekten, welche das Einrollen von Blättern (an Zuckerrüben) verursachen, keine Krankheiten übertragen, da ihnen der Pseudovitellus fehlt; ganz besondere Aufmerksamkeit wurde den Blasenfüßen (Thysanoptera) und den Collembola geschenkt“. In den Veröffentlichungen von Böning (2), Rambousek (12) u. a. sind zahlreiche Beispiele angeführt, wonach saugende Insekten die Erreger von Pflanzenkrankheiten übertragen können. Auf der Suche nach den Erregern pflanzlicher Viruskrankheiten wurden in neuerer Zeit anatomische Untersuchungen an den die Krankheit übertragenden Insekten angestellt. Solche Untersuchungen liegen beispielsweise vor von Dobroscky (5) an Cicadula sexnotata Fallen sowie von Swezy und Severin (17) an Eutettix tenella Baker. Die letzteren fanden rickettsia-ähnliche Mikroorganismen, ähnlich den von Arkwright, Atkin und Bacot (1) bei Cimex lectularius festgestellten vorwiegend im Mitteldarm von Eutettix, die bei der infektiösen Form zu 69,5% und bei der nicht infektiösen zu 41,4% vertreten waren. Carter und Cotner (4) gelang es, aus mit Fischhaut bedeckten Zuckerlösungen, welche von dieser kalifornischen Rübenzikade besogen worden waren, zwei Hefepilze, Torula tenellicola n. sp. und Monilia nigra Browne, zu isolieren. Ein eindeutiger Zusammenhang mit dem Erreger der curly-top genannten kalifornischen Rübenkrankheit konnte jedoch nicht erbracht werden. Hinsichtlich der Wanzen-Kräuselkrankheit der Zuckerrübe liegen derartige Untersuchungen noch nicht vor. Wille (19, S. 28) schreibt über den rotbraunen „Magenfleck“ der Larven von Piesma quadrata Fieb: „Ob es sich bei diesem Organ tatsächlich nur um einen besonders gefärbten Abschnitt des Darmkanals handelt oder um ein myzetomähnliches Gebilde, müssen spätere Untersuchungen zeigen.“ Einer Anregung von Herrn Dr. E. W. Schmidt folgend, suchte ich zunächst die anatomischen Verhältnisse bei Piesma quadrata Fieb. unter dem Gesichtspunkt zu klären, ob myzetomähnliche Gebilde bzw. Darmkrypten einen Anhalt für den Unterschied zwischen infektiöser und nicht infektiöser Wanzenform in anatomischer Beziehung bieten könnten.

a) Material und Methode.

Da aus den Infektionsversuchen von Wille (19, S. 93) hervorgeht, daß Larven nicht imstande sind, die Kräuselkrankheit hervorzurufen, dienten als Ausgangsmaterial für nachfolgende Untersuchungen vornehmlich Imagines. Die infektiösen Exemplare entstammten stark geschädigten

Rübenschlägen der Feldmark Roßdorf (Freistaat Anhalt), während die „nichtinfektiösen“ Wanzen in der Umgegend von Klein-Wanzleben (Bez. Magdeburg) von Melde (Chenopodium glaucum) gesammelt bzw. aus den Winterquartieren entnommen wurden. Die Annahme, daß die aus Klein-Wanzleben stammenden Rübenblattwanzen tatsächlich als „nicht infektiös“ zu bezeichnen sind, geht, abgesehen von einem an anderer Stelle veröffentlichten Infektionsversuch, daraus hervor, daß trotz schärfster Überwachung der Zuckerrübenschläge in Klein-Wanzleben im Verlauf von nunmehr 6 Jahren und speziell im Hinblick auf diesen Rübenschädling innerhalb eines Areales von ca. 7000 ha nicht eine einzige an der Piesma-Kräuselung erkrankte Rübe festgestellt werden konnte.

Über die Untersuchungsmethode sei zusammenfassend folgendes bemerkt: Der Hauptteil der untersuchten Wanzen wurde unter einem stereoskopischen Mikroskop bei 28 facher Vergrößerung im Uhrglas unter Wasser mittels Präpariernadeln bzw. Glasfäden seziert, wobei die Tiere mit der ventralen Seite in Bienenwachs eingeschmolzen waren. Ein anderer Teil wurde nach Carnoy-Fixage in Paraffin eingebettet. Die Schnittstärke wurde von 7,5—30 μ variiert. Außer Eisenhämatoxylin nach Heidenhain eignete sich zur Schnittfärbung ganz besonders das Farbengemisch nach Giemsa. Für Quetsch- bzw. Ausstrichpräparate von Darmteilen und Speicheldrüsen fand Löfflersches Methylenblau Verwendung.

b) Der Darmkanal und seine Anhänge.

Wie bei allen Hexapoden zerfällt der Darmkanal (Abb. 1, 2) in 3 Abschnitte: den Vorderdarm, Mitteldarm und den Enddarm. Mit seinem distalen Ende, dem Pharynx, grenzt der Vorderdarm an die Mundhöhle bzw. an den basalen Teil des Stechapparates (Haustellum). Das distale Ende sowie die Ventralseite des Pharynx sind stark chitinisiert. Ventral vom Pharynx findet sich die hier verhältnismäßig kleine Speichelpumpe. Entsprechend seiner Funktion als Mundpumpe besteht die Pharynxfläche (Operculum) aus einer elastischen Haut, welche außen mit der Membrana striata als Ansatzstelle für den Dilatator pharyngis versehen ist, wodurch die Saugbewegungen bewerkstelligt werden. Der Dilatator pharyngis setzt sich aus etwa 18 Einzelbündeln zusammen. Die Form des Pharynx gleicht einer langgestreckten Spindel mit annähernd flach U-förmigem Querschnitt, der sich proximal allmählich verjüngend in den röhrenförmigen Ösophagus übergeht. Seine Gesamtlänge beträgt etwa 0,31 mm. Der Ösophagus repräsentiert den zweiten und letzten Teil des Vorderdarmes. Kurz hinter seinem oralen Ende durchbricht er die durch 2 Konnektive eng mit dem subösophagealen Zentrum verbundenen zerebroiden Ganglien, verläuft dann weiter zwischen den Hautspeicheldrüsen und mündet mit einer Länge von ca. 0,6 mm und einem Durchmesser von ca. 19 μ in Höhe des 2. Thoraxsegmentes in den 1. Magen des Mitteldarmes ein (Einteilung der Darmabschnitte nach Glasgow, 7, S. 131). Am Eingang dieses Magens liegt die Valvula cardiaca, welche den Rückfluß des Mageninhaltes verhindert. Die äußere Form des Magens hat Ähnlichkeit mit einem langgestreckten, oft birnenförmig verdickten Sack, der sich bis zum 4. Abdominalsegment ausdehnt und hier mit einer Einschnürung in die 2. magenartige Erweiterung des Mitteldarmes übergeht. Die äußere Seite der Kutikula ist mit einem reich verzweigten Tracheensystem versehen. Etwa im letzten Drittel sind beiderseits die Enden der Nebendrüsen durch fein verästelte Tracheen be-

festigt. Auf der Innenseite findet sich das von der Kutikula getragene Drüsenepithel. Der 1. Magen ist dünnwandig und stark erweiterungsfähig. Hinsichtlich seiner Größe überragt er die beiden noch folgenden magenartigen Erweiterungen beträchtlich. Im künstlich ausgestreckten Zustand zeigt der 2. Magen auf der einen Seite eine sichelförmige Ausbuchtung. Gewöhnlich findet er sich bei der Sektion am rechten unteren Ende des 1. Magens mehr oder weniger innig verschlungen mit dem 3. Magen. Das Drüsenepithel ist von gleicher großkerniger Beschaffenheit wie das des 1. Magens. Stark verjüngt mündet er in die letzte blasenförmige Erweiterung

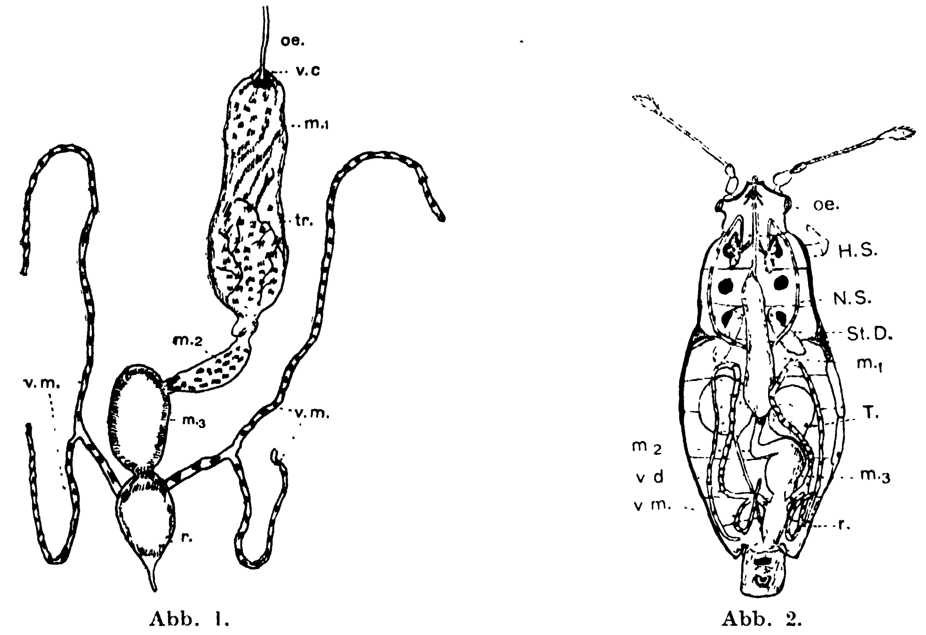


Abb. 1. Darmkanal von P i e s m a q u a d r a t a Fieb. ♀. Vergr. ca. 19 ×. oe = Oesophagus. v. c. = Valvula cardiaca. m_{1-3} = 1. bis 3. Magen. tr = Tracheen. r = Rectum. v. m. = M a l p i g h i sche Gefäße.

Abb. 2. Darmtraktus und Drüsen von P i e s m a q u a d r a t a Fieb. ♂, etwas schematisiert. Vergr. ca. 15 ×. oe = Oesophagus. H. S. = Hauptspeicheldrüse. N. S. = Nebendrüse. St. D. = Stinkdrüse. m_{1-3} = 1. bis 3. Magen. T = Testis. v. d. = vas deferens. v. m. = M a l p i g h i sche Gefäße. r = Rectum.

des Mitteldarmes, welche in weit geringerem Maße mit Drüsenepithel ausgestattet ist als die vorhergehenden Abschnitte. Der Enddarm (Rectum) beginnt im 6. Abdominalsegment. Er grenzt fast unmittelbar an den Mitteldarm und ist lediglich durch eine kurze Einschnürung von ihm getrennt. Dieser Teil ist im allgemeinen bei den phytophagen Wanzen mit mehr oder weniger zahlreichen Blindsäcken oder Krypten versehen, die mit symbiotischen Bakterien gefüllt sind. K u s k o p (9) hat nach der Form dieser Blindsäcke 4 verschiedene Typen aufgestellt: 1. den Pentatoma-Typus mit vierzeilig angeordneten, den Darm spiralig umwindenden Krypten; 2. den Syromastes-Typus (Coreiden) mit zweizeilig angeordneten Krypten; 3. den Aphanus-Typus (Aphaninen), der durch verschieden lange, vom Darm ausgehende. schlauchförmige Blindsäcke gekennzeichnet ist und 4. den Pyrrhocoris-

Typus, der nur sehr wenige oder gar keine Krypten aufweist. Die Bakterien sind hier im Darmlumen verteilt. In Abb. 3 sind die Darmkrypten eines weiblichen Exemplares von Pyrrhocoris apterus veranschaulicht. Diesem 4. Typus ist auch Piesma quadrata Fieb., sowohl die infektiöse wie die nicht infektiöse Form, zuzurechnen, die weder an der Verbindungsstelle zwischen Rectum und 3. Magen noch an den vorhergehenden Teilen des Mitteldarmes irgendwelche kryptenartigen Ausbuchtungen erkennen lassen. Im geschrumpften Zustand finden sich nicht nur an dem Verbindungsstück, sondern auch an der Außenseite des 3. und 2. Magens bis hinauf zum analwärts gelegenen Ende des 1. Magens nur bei stärkerer Vergrößerung sichtbare rillenartige Einkerbungen, die jedoch bei prall gefülltem Mitteldarm auch bei Anwendung der Ölimmersion nicht mehr zu erkennen sind. Eigentliche Darmkrypten im Sinne Kuskops (l. c.) und Glasgows (7) sind nicht vorhanden. Im Gegensatz zu Kuskop fand Buchner (3, S. 393) bei einer den Piesmatiden nahestehenden Familie, den Tingitiden (untersuchte Art: Stephanitis rhododendri) äußerlich als Darmausstülpungen nicht in Erscheinung tretende Symbiontenwohnstätten in Form kleiner Nischen, die mit sehr kleinen Bakterien gefüllt waren. Vorwiegend im 2. und 3. Magen fand ich bei Piesma zahlreiche Bakterien in Kokkenform. Unter sterilem Paraffinöl an den äußerlich mit Sublimat 1 : 500 behandelten Wanzen exstirpierte ich den Mitteldarm und versuchte, die Darmbakterien auf Rübenblattagar mit Bouillon- und Peptonzusatz zu züchten; die Kulturen blieben jedoch steril. Auf Grund der Versuche von Glasgow (l. c.) wird man zu der Annahme gedrängt, daß es sich bei diesen Bakterienformen in den meisten Fällen (mit Ausnahme z. B. der Bakteriensymbionten von Anasa tristis) um obligate Darmbewohner handelt, die auf den künstlichen Nährböden nicht existieren können. Die Bedeutung der Symbionten liegt wahrscheinlich auf ernährungsphysiologischem Gebiet. Im Verzeichnis über die von ihm untersuchten Wanzen führt Glasgow (l. c., S. 140) auch Piesma cinerea an. Nähere Angaben über die Existenz oder die Beschaffenheit etwaiger Darmkrypten sind jedoch nicht mitgeteilt.



Abb. 3. Ende des Mitteldarmes von Pyrrhocoris apterus L. ♀. K = Darmkrypten. Zeiss - Phoku ohne Optik; Leitz - Mikr. Obj. 6×.

Das Rectum (Abb. 1, 2) ist flach eiförmig gestaltet, mit dem spitz zulaufenden Ende dem Anus zugewandt. In den Anfangsteil mündet beiderseits je ein Hauptast der Malpighischen Gefäße, der sich bald darauf teilt und einen längeren Strang oralwärts entsendet, während der kürzere im analen Teil des Abdomens verbleibt. Das Epithel ist mit großen Kernen ausgestattet, die sich leicht mit Safranin anfärben lassen. Verschiedentlich fand ich das Lumen der Malpighischen Gefäße vielfach nur einseitig mit einer weißlichen Masse (offenbar harnsauren Konkretionen) angefüllt. Die im Mitteldarm angetroffenen Bakterien wurden in geringerer Menge auch hier und zwar bei beiden Wanzenformen beobachtet. Im Darmkanal der Larven des 4. und 5. Stadiums konnten 3 magenartige Erweiterungen festgestellt werden, die jedoch in gefülltem Zustand mehr kugelartig geformt sind. Der von Wille (19, S. 87) erwähnte rotbraune „Magenfleck" rührt

von den rötlich gefärbten, abdominalen Dorsaldrüsen her, die durch das Integument hindurchschimmern.

c) Drüsen.

Die paarig angelegten, dreilappigen Hauptspeicheldrüsen liegen abdominal der Schlundkommissur, dicht an den beiden halbkugelig gestalteten Lobi optici des Protocerebrums und zu beiden Seiten des Ösophagus. Sie erstrecken sich über die gesamte Breite des 1. Thoraxsegmentes. Der Vorderlappen (vgl. Abb. 4) ist spindelförmig ausgebildet und läuft an der oralwärts liegenden Spitze in einen sehr dünnen Endfaden (vermutlich der den

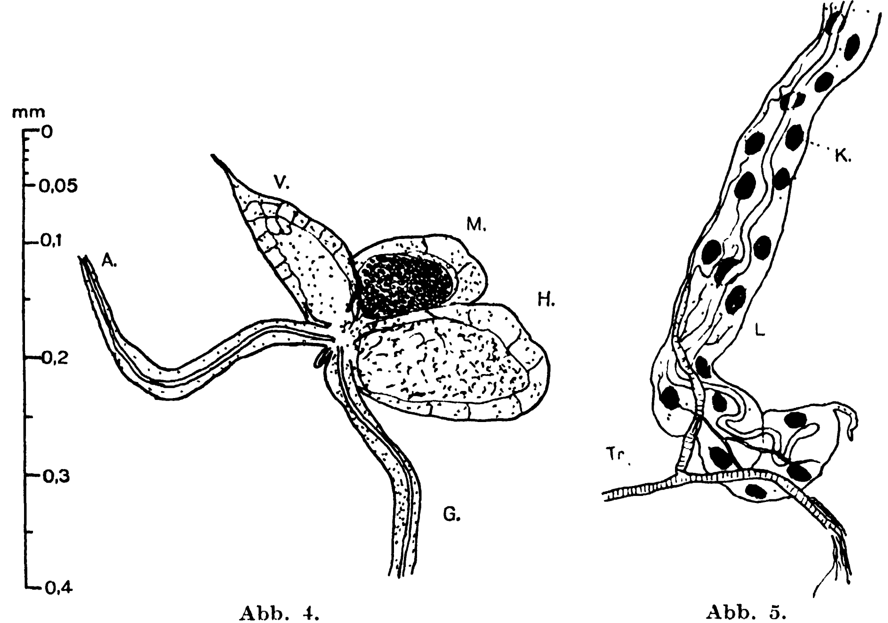


Abb. 4. Abb. 5.

Abb. 4. Hauptspeicheldrüse von Piesma quadrata Fieb. ♀. (Leitz-Mikr. Ok. 5, Obj. 30 ×; Abbe scher Zeichenapp.). A = Ausführungsgang. V = Vorder-, M = Mittel-, H = Hinterlappen. G = Verbindungsgang zur Nebendrüse.

Abb. 5. Unterer Teil der Nebendrüse von Piesma quadrata Fieb. (Vergrößerung wie Abb. 4.) K = Zellkerne (mit Methylenblau angefärbt). L = Lumen. Tr = Tracheenast.

Sekretionsreiz auslösende Nerv) aus. Zwischen Vorder- und Hinterlappen ist der kugelige Mittellappen tief eingesenkt. Die größte Ausdehnung besitzt der mehr keulenförmig gestaltete hintere Lappen. Die Gesamtlänge der Hauptdrüse beträgt etwa 0,35 mm. An der Vereinigungsstelle der 3 Teile findet sich der in die Speichelpumpe mündende, ziemlich englumige Ausführungsgang sowie der Verbindungsgang zwischen Haupt- und Nebendrüse. Beim männlichen und weiblichen Tier sind die Speicheldrüsen morphologisch nicht differenziert, wie es beispielsweise bei Naucoris der Fall ist (18, S. 217). In histologischer Beziehung ist der Einfluß der Winterruhe an den Speicheldrüsen deutlich erkennkar. Aus überwinternden Exemplaren entnommene Drüsen zeigen im mittleren Teil des Vorder- und Hinterlappens eine homogene, feinkörnige Struktur, von welcher sich der zentrale Teil des Mittel-

lappens durch eine gröbere Körnung unterscheidet. Dagegen haben solche Drüsen, die kurz vor der Fixage voll in Funktion gewesen waren, zahlreiche Vakuolen im Vorder- und Hinterlappen sowie in geringerem Maße auch an den Randpartien des mittleren Lappens ausgebildet. Der Verbindungsgang mündet nach Ausführung einer Kopfschleife in die schlauchförmige Nebendrüse (Abb. 5) ein. Wie schon oben erwähnt, liegen die Enden der Nebendrüsen in Höhe des 3. Abdominalsegmentes lateral dem 1. Magen an und werden von dort aus mit fein verzweigten Tracheen versorgt (Abb. 2). Am äußersten Ende findet sich ein wurmartiger Fortsatz. Bemerkenswert sind, abgesehen von dem verhältnismäßig engen Lumen, die relativ großen mit Methylenblau leicht anzufärbenden Kerne. Weder bei der infektiösen noch bei der nicht infektiösen Wanzenform waren nach Färbung mit Löfflerschem Methylenblau Bakterien in den Speicheldrüsen nachweisbar.

Die von Buchner (3, S. 626) an den Hoden der Bettwanze entdeckten Myzetome gaben Veranlassung, die Keimdrüsen der Rübenblattwanze auf etwaige myzetomähnliche Gebilde zu untersuchen. Wegen der hellziegelroten Färbung sind die beiderseits am analen Ende des 1. Magens und teilweise von ihm verdeckt liegenden Hoden unschwer aufzufinden (Abb. 2). Im allgemeinen hat der Testis die Form einer abgeplatteten Kugel. Durch Einlegen in eine hypotonische Lösung findet daraufhin auf osmotischem Wege eine starke Anschwellung statt, die eine Einschnürung des durch den Hilus verlaufenden Äquators zur Folge hat, so daß der Hoden die Form einer Niere annimmt. Vom Hilus der Testes verlaufen die ebenfalls ziegelrot gefärbten Vasa deferentia analwärts, um unterhalb des Rectums an gleicher Stelle in die Schwellblase (Ductus ejaculatorius) einzumünden. Weder die Testes noch die bereits von Wille (19, S. 22) beschriebenen weiblichen Sexualorgane mit ihren fingerförmigen Ovarien weisen myzetomartige Gebilde auf.

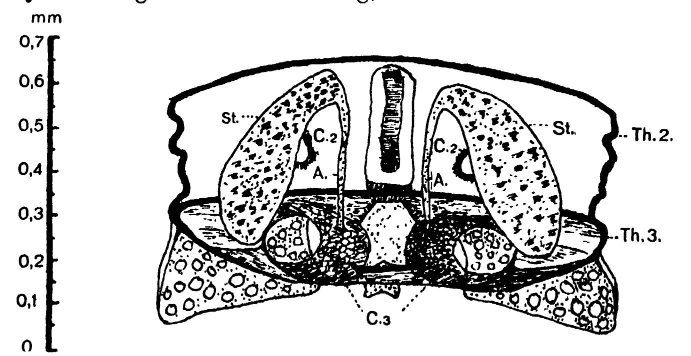


Abb. 6. Dorsalansicht des Meso- und Metathorax von Piesma quadrata Fieb. (Leitz-Mikr. Ok. 5, Obj. 10×; Abbescher Zeichenapp.). St = Stinkdrusen. A = Ausführungsgänge. Th_2 = Mesothorax. Th_3 = Metathorax. C_2 = Coxae des Mesothorax. C_3 = Coxae des Metathorax.

Als letzte der verschiedenen Drüsengruppen wären noch kurz die Stinkdrüsen zu erwähnen. Diese paarig vom Metasternum bis zum 2. Abdominalsegment gelegenen sackförmigen Organe sind ebenfalls rötlich gefärbt. Im Gegensatz zu Wille (l. c. S. 18) fand ich die bei den Imagines allerdings außerordentlich kleinen und verdeckt liegenden Ausführungsgänge der thorakalen Drüsen an der Innenseite der Coxae des 3. Beinpaares (Abb. 6). Betrachtet man eine auf dem Rücken liegende Wanze durch ein Binokular bei etwa 30facher Vergrößerung, so läßt sich das Austreten des Drüsensekretes nach Reizung des Tieres durch einen leichten Druck gut beobachten. Nicht selten erfolgt die Abgabe von Sekret zweimal kurz hintereinander.

Der Geruch ähnelt dem des Stinksaftes der Beerenwanze (Dolycoris baccarum L.). Wie weiter oben bei der Erwähnung des „Magenfleckes" bereits angegeben wurde, liegen die Stinkdrüsen der Larven auf der Dorsalseite des Abdomens. Die beiden schlitzförmigen Ausführungsgänge endigen an der Vorderkante des 4. und 5. Tergits.

Aus den Untersuchungen des Darmkanals und der Drüsen geht hervor, daß die beiden Formen von Piesma quadrata Fieb. in anatomischer Beziehung keinerlei Unterschiede erkennen lassen. I. Dobroscky (5) hatte ähnliche Feststellungen bei infektiösen und nicht infektiösen Formen von Cicadula sexnotata Fallen, der Überträgerin des „aster yellows"-Virus gemacht.

Zusammenfassung.

1. Anatomische Unterschiede zwischen der infektiösen und nicht infektiösen Form von Piesma quadrata Fieb. konnten nicht ermittelt werden.

2. Darmkrypten im Sinne Kuskops sowie myzetomähnliche Gebilde an den Keimdrüsen wurden bei Piesma quadrata Fieb. nicht angetroffen.

3. Die Speicheldrüsen beider Wanzenformen waren frei von Bakterien.

Literatur.

1. Arkwright, J. A., Atkin, E. E., and Bacot, A., An hereditary rickettsia like parasite of the Bedbug (Cimex lectularius). (Parasitology. Vol. 13. 1921.) — 2. Böning, K., Insekten als Überträger von Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. angew. Entomologie. Bd. 15. 1929. S. 180. Berlin [Parey].) — 3. Buchner, P., Tier und Pflanze in Symbiose. 2. Aufl. 1930. S. 393. Berlin (Gebr. Borntraeger). — 4. Carter, W., and Cotner, F. B., Isolation of certain yeast forms from Eutettix tenellus Baker. (Journ. of economic entomology. Vol. 22. 1929. p. 237—241 Geneva [New York].) — 5. Dobroscky, I. D., Morphological and cytological studies on the salivary glands and alimentary tract of Cicadula sexnotata (Fallen), the carrier of aster yellows virus. (Contrib. fr. Boyce Thompson Inst. Vol. 3. 1931. p. 39. New York.) — 6. Forbes, Bacteria normal to digestive organs of Hemiptera. (Bull. Illinois State Lab. nat. hist. Art. 1. 4. 1892.) — 7. Glasgow, Hugh, The gastric caeca and caecal bacteria of the Heteroptera. (Biol. Bull. of the marine biolog. labor. Vol. 26. March 1914. Nr. 3. p. 101. Woods Hole, Mass.) — 8. Heymons, R., Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Rhynchoten. (Nova Acta Leop. Carol. Acad. Bd. 74. 1899.) — 9. Kuskop, M., Bakteriensymbiosen bei Wanzen (Hemiptera, Heteroptera). (Arch. f. Protistenkunde. Bd. 47. 1924.) — 10. Pierantoni, U., Origine e struttura del corpo ovale del Dactylopius citri e del corpo verde dell' Aphis brassicae. (Boll. Soc. Nat. Napoli. T. 24. 1910.) — 11. Pierantoni, U., Ulteriori osservazioni sulla simbiosi ereditaria degli Omotteri. (Zool. Anz. T. 25. 1910.) — 12. Rambousek, Fr. J., Insekten als Krankheitsüberträger. (Ztschr. f. d. Zuckerind. d. tschechoslowak. Republik. Jahrg. 1928/29. S. 405—409.) — 13. Rambousek, Fr. J., Die Rübenschädlinge im Jahre 1927 und 1928. (Ber. d. Forschungsinst. d. tschechoslowak. Zuckerind. in Prag f. d. Jahr 1929—1930. Bd. 33. 1930. S. 137.) — 14. Schmidt, E. W., Zur Mosaikkrankheit der Zucker- und Futterrübe. (D. Dtsch. Zuckerind. Nr. 47. Nov. 1927. S. 1305.) — 15. Schottelius, Max, Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung. (Arch. f. Hygiene. Bd. 34. 1899. S. 210—244; Bd. 42. 1902. S. 48—71; Bd. 67. 1908. S. 177—208.) — 16. Šulc, K., Symbiotische Saccharomyceten der echten Cikaden. (Sitzber. d. königl. böhm. Ges. d. Wissensch. Prag 1910.) — 17. Swezy, O., and Severin, H. H. P., A rickettsia-like microorganism in Eutettix tenellus (Baker), the carrier of curly top of sugar beets. (Phytopathology. Vol. 20. 1930. Nr. 2. p. 169—178. Lancaster, Pa.) — 18. Weber, Hermann, Biologie der Hemipteren. Berlin (Springer) 1930. — 19. Wille, Joh., Die Rübenblattwanze Piesma quadrata Fieb. (Monographien z. Pflanzensch. [Berlin Springer] 1929.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Klein, G., Handbuch der Pflanzenanalyse. (Bd. 3. 2 Teile. Wien [Springer] 1932. 1613 S.)

Der 3. Band des Handbuchs der Pflanzenanalyse ist in zwei Teilen erschienen. Im 1. Teil sind Membranstoffe, natürliche Gerbstoffe, Flechtensäuren, ätherische Öle, Kautschuk und Harze, im 2. Teil hauptsächlich glucosidartige Stoffe und Pflanzenfarbstoffe zur Darstellung gebracht. Der Gesamteindruck auch dieses Bandes wird für den Wissenschaftler wie für den Praktiker ein gleich vorzüglicher sein. In Anbetracht des Ausmaßes der vorliegenden Teile muß sich eine Besprechung auf einige hervorstechende Punkte beschränken. Ganz allgemein läßt sich sagen, daß die Behandlung der einzelnen Stoffgebiete dem neuesten Stand der Forschung angepaßt ist.

Neben einer jeweiligen Beschreibung der chemischen, physikalisch-chemischen und z. T. wenigstens auch der physiologischen Eigenschaften der betreffenden Stoffe nimmt die Darstellung der Bestimmungsmethoden einen erfreulich breiten Raum ein, und soweit es sich um die Bestimmung der reinen Substanzen handelt, ist das Werk zweifellos ein zuverlässiger Führer. Fur den Stoffwechselphysiologen freilich kann es nur eine — immerhin unentbehrliche — Grundlage fur die Ausarbeitung an das biologische Medium angepaßter Methoden sein. Gelegentlich hätte derartigen Bedürfnissen weitgehender Rechnung getragen werden können. So wäre als Abschluß der ausgezeichneten Darstellung der Membranstoffe kohlehydratartiger Natur durch Pringsheim ein Gesamtanalysengang zur Trennung und Bestimmung der pflanzlichen Kohlehydrate, etwa im Sinne Waksmans und Stevens unter stärkerer Berücksichtigung der spezifischen biologischen Bestimmungsmethoden gegenuber den unsicheren Reduktionsmethoden erwünscht gewesen. Bei der Pentosenbestimmung vermissen wir die bequemen kolorimetrischen und die Sulfitmethode. Den Mikrobiologen werden die schönen mikrochemischen und histologischen Methoden interessieren.

Das Pektin, dessen chemische Erforschung in den letzten Jahren so erfreuliche Fortschritte gemacht hat, fand in Ehrlich den berufendsten Bearbeiter. Wenn die Darstellung naturgemäß gelegentlich individuelle Züge trägt, so ermöglicht die ausführliche Literaturangabe doch ohne weiteres eine Orientierung über gelegentliche Differenzpunkte mit anderen Forschern. Schade, daß die neuesten fermentchemischen Untersuchungen des Verf.s nicht mehr mit aufgenommen werden konnten.

Die Darstellung des Lignins wächst in ihrer Klarheit und Ausfuhrlichkeit uber die Bedürfnisse eines praktischen Handbuchs hinaus zu einer geschlossenen Darstellung einer Biochemie des Lignins. Kalb fiel die schwere Aufgabe der Behandlung der qualitativen und quantitativen Bestimmung, sowie der Isolierungsmethoden zu. Bei der Besprechung der Kork- und Cutinsubstanzen hätten wir gern auch die mikrochemischen Methoden van Wisselinghs erwähnt gefunden. Für die Pollenanalytiker wird die ausführliche Behandlung der Sporopollenine von großem Nutzen sein.

Die Rohfaserbestimmung (Sutthoff) hat nicht nur praktische, sondern als Bezugsgröße bei physiologischen Versuchen erhebliche Bedeutung. Dabei scheinen sich allerdings die oxydierenden Verfahren gegenüber den rein hydrolytischen schon wegen der Beseitigung der störenden Pflanzenschleime besonders zu bewähren. Das Woonder- und das König verfahren sind eingehend geschildert. Den noch relativ wenig bekannten Membranstoffen der niederen Pflanzen sind verschiedene nach Pflanzenklassen gesonderte Abschnitte gewidmet. Eine ausführliche Darstellung haben dann auch die Inkohlungsprodukte fossiler Pflanzenreste gefunden.

Aus der berufenen Feder Freudenbergs stammt eine ausgezeichnete Behandlung der natürlichen Gerbstoffe, die neben Konstitutionsfragen im theoretischen Teil auch biochemische Zusammenhänge streift. Im speziellen Teil werden die einzelnen natürlichen praktisch wichtigen Gerbstoffe sehr eingehend nach Aufbau, Isolierung aus dem Pflanzenmaterial und Bestimmung behandelt. Auf eine Beschreibung der Flechtensäuren folgt das interessante Kapitel über ätherische Öle (K. Thomas). Wenn man die schöne übersichtliche Darstellung, sowie diejenige der Kautschuk- und Harzstoffe überblickt, erkennt man, welche Bedeutung dem Isoprenproblem bei der Genese der Naturstoffe zukommt. Auch hier ist praktischen Bedürfnissen in weitestem Maße Rechnung getragen. Das Gebiet der Glukoside streckt Ausläufer in zahlreiche physiologische

Sphären aus. Die Übersichtlichkeit erfordert dabei eine gewisse Schematisierung, die es nicht vermeiden läßt, daß gelegentlich Zusammengehöriges etwas auseinandergezerrt wird. So werden Glukoside mit aliphatischen und aromatischen Aglukonen durch die Flavone von den Anthocyanen getrennt. Die Blausäureglukoside folgen den Anthracenglukosiden. Saponine und Digitalisglukoside sind ihrer praktischen Bedeutung entsprechend eingehend gewürdigt. Im allgemeinen wird man den Eindruck gewinnen, daß auch über dieses Stoffgebiet alles Wesentliche gewissenhaft gesammelt worden ist. Der Pflanzenphysiologe freilich wird eine quantitative Bestimmungsmethode schmerzlich vermissen. Die Bourquelotsche kombinierte Reduktions- und Polarisationsmethode ist zwar zur Erkennung der Glukoside sehr geeignet, als quantitative Methode indessen vereinigt sie die Unsicherheit der Reduktionsmethoden mit den technischen Schwierigkeiten der Polarisationsmethoden und ist zu bilanzmäßigen Stoffwechseluntersuchungen nicht geeignet. Hier liegt noch ein großes Feld methodischer Arbeit, das immerhin an einigen Glukosiden (Klein, Kerstan) in Angriff genommen worden ist, aber noch einer allgemein anwendbaren methodischen Behandlung der Glukoside ermangelt.

Zechmeister gibt einen sehr instruktiven Überblick über die Carotinoide und deren biochemische Verknüpfung mit anderen Pflanzenstoffen. Der praktischen Aufgabe des Handbuchs wird Verf. durch Darstellung der Isolierungs- und Bestimmungsmethoden, sowie einer eingehenden Schilderung der wichtigsten natürlichen Carotinoide gerecht. Theoretisch werden vor allem die Konstitutionsabhandlungen interessieren. Im Anschluß hieran wird von Treibs das Chlorophyll behandelt unter besonderer Berücksichtigung der künstlich erzwungenen und der natürlichen Abbauprodukte. Dabei sind allerdings die Fragen der Isolierung und Bestimmung der Chlorophyllkomponenten etwas kurz weggekommen. Boresch gibt eine Darstellung der Isolierung der spezifischen Algenpigmente und Kögl umreißt das noch wenig erforschte Gebiet der Bakterien- und Pilzfarbstoffe, auf dem er selbst ja führend tätig ist; aus der reichhaltigen Darstellung sollen nur die Abhandlungen über Konstitutionsfragen des physiologisch bedeutsamen Boletols sowie diejenigen über den Koproporphyringehalt der Hefe und die schönen Untersuchungen über den Farbstoff des Fliegenpilzes hervorgehoben sein. Den Bakteriologen werden die Kapitel über Prodigiosin, Farbstoffe der Purpurbakterien, Pyocyanin usw. interessieren. F. Mayer gibt am Schluß eine Übersicht über noch wenig erforschte Pflanzenstoffe, besonders Holzfarbstoffe.

Im ganzen also wieder eine Darstellung, die geeignet erscheint, nicht nur praktischen Bedürfnissen entgegenzukommen, sondern auch der Stoffwechselphysiologie neuen Auftrieb zu geben. Wetzel (Leipzig).

Hueck, K., Die Pflanzenwelt der deutschen Heimat und der angrenzenden Gebiete. II. Seen, Moore, Wiesen, Heiden. 240 S. mit 52 farbigen Kunstdruck- und 81 Kupfertiefdrucktafeln sowie zahlreichen Textabbildungen. Verlag Hugo Bermühler, Berlin-Lichterfelde 1933. Preis 90.— RM.

Der zweite Band dieses Monumentalwerkes, das von der Staatl. Stelle für Naturdenkmalpflege in Preußen herausgegeben wird, reiht sich würdig an den ersten an. Im Abschnitt Seen werden nach Eingehen auf Verbreitung und Morphologie u. a. die Seen als „Lebensraum" abgehandelt, es werden die biologischen Seentypen besprochen, ihre Unterscheidung in eutrophe, oligotrophe und dystrophe klargelegt und die verschiedenen Pflanzengesellschaften erläutert. Der zweite Abschnitt Moore nimmt inhaltlich den weitaus größten Raum ein; es wird je nach Wichtigkeit mehr oder minder ausführlich auf die Flachmoore, Quell- und Gehängemoore, die Hochmoore sowie ihre Pflanzengesellschaften eingegangen und dabei auch der Bedeutung der Moore für die Erforschung der nacheiszeitlichen Klima- und Waldgeschichte Erwähnung getan. In den beiden letzten Abschnitten Wiesen und Heiden wird u. a. über Ursprung, Nutzung und Pflanzenassoziationen berichtet.

Die textliche Darstellung ist wiederum von anerkennenswerter Klarheit und Kürze und die Tafeln sind zum größten Teil von so naturwahrer

Schönheit, daß sich ihre Durchsicht selbst für den Botaniker zu einem ästhetischen Genuß gestaltet; nur bei einigen der Buntdrucke stört die zu sehr ins Blaugrüne übergehende Blattfarbe.

Infolge seines im Verhältnis zur Güte der Ausführung niedrigen Preises steht zu hoffen, daß das Werk nicht nur innerhalb des Deutschen Reiches, sondern weit über dessen Grenzen hinaus Verbreitung findet. Stapp.

Weber, Hermann, Lehrbuch der Entomologie. Mit 555 Abb. u. 726 S. Verlag Gustav Fischer, Jena. 1933. Preis: Brosch. 36 RM., geb. 38 RM.

In einzelnen Kapiteln werden in vergleichender morphologisch-anatomischer und der sich daraus ergebender physiologischer Betrachtungsweise Skelett und Muskulatur, Nervensystem und Sinnesorgane, Stoffwechselorgane, Fortpflanzung, Entwicklung und Ökologie der Insekten behandelt, wobei eine gute Auswahl des Wichtigsten unter Berücksichtigung der neueren Literatur getroffen und auf weitere Literatur hingewiesen wird. Eine kurze systematische Übersicht, die aus Gründen der Raumknappheit nur im Rahmen einer für die vorhergehenden Kapitel notwendigen Klarstellung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den höheren systematischen Einheiten gehalten werden konnte, bildet mit einem Literaturverzeichnis und einem Sachregister den Schluß. — Das Lehrbuch setzt allgemeine zoologische Kenntnisse voraus, ist aber sehr klar und anschaulich geschrieben und mit einheitlich ausgeführten, guten Abbildungen ausgestattet, so daß es ein gutes Lehrbuch für Studierende der Naturwissenschaften, der Medizin und der Land- und Forstwirtschaft und einen anregenden Führer für Lehrer und entomologische Sammler darstellt. Auch dem im Pflanzenschutz und in der Schädlingsbekämpfung Tätigen wird es oft zur Orientierung dienen können. Trappmann (Berlin-Dahlem).

Houard, C., Les Zoocécidies des plantes de l'Amerique du Sud et de l'Amerique Centrale. Paris 1933 (Hermann & Co). 519 p., 1027 fig. Preis: 120 frcs.

Der als Verf. von Büchern über die Gallen Europas und der Mittelmeerländer, Afrikas, Asiens, Ozeaniens und Nordamerikas auch in Deutschland sehr bekannte Verf. bereichert hiermit die Gallenkunde um ein neues Werk, das die Gallen Süd- und Mittelamerikas behandelt, d. h. die bis jetzt bekannten, die natürlich nur einen kleinen Teil aller, die es gibt, ausmachen; die Pampas und die Anden, sagt Verf., haben dem Cecidologen noch sehr wenig von ihren Geheimnissen hergegeben, und so weiß man denn über die Gallen Uruguays und Paraguays fast nichts. Aus dem ganzen großen neotropischen Gebiet aber sind jetzt immerhin 1341 Gallen aus 98 Pflanzenfamilien bekannt, von denen die Leguminosen mit 186 Gallen an der Spitze stehen, die Compositen mit 164 an zweiter Stelle. Unter den Cecidozoen sind am reichlichsten die Dipteren (127 Arten, 70 Gattungen) vertreten. Für jede Galle wird die Bibliographie angegeben; zahllose Abbildungen, vom Verf. selbst gezeichnet, ergänzen die Beschreibungen, die nach den Pflanzenarten angeordnet sind. Das Buch steht auf der Höhe der früheren, rühmlich bekannten Veröffentlichungen des Verf.s zur Gallenkunde.

K. Friederichs.

Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile nach ihren Merkmalen und nach ihrer

Lebensweise. Begr. v. F. Dahl. 27. Teil: Libellen oder Wasserjungfern (Odonata). Von Dr. **Eduard May** (Göttingen). 124 S., 134 Abb. Jena (G. Fischer) 1933.

Eine sehr sorgsame Bearbeitung unserer Odonatenfauna im Rahmen des von F. Dahl begonnenen, von seiner Frau und H. Bischoff fortgesetzten großen Faunenwerkes. In einem allgemeinen Abschnitt werden dargestellt die äußere Morphologie (insbesondere soweit sie für die Bestimmung der Arten wichtig ist), die Grundzüge der Lebensweise von Larve und Imago, der Fang, die Zucht und die Herrichtung für die Sammlung. Das für die Bestimmung wichtige Flügelgeäder wird mit besonderer Genauigkeit behandelt. Die Bestimmungstabelle und Beschreibung der Arten enthält nach Möglichkeit alle Synonyme sowie Mitteilungen über die Bionomie. Auch eine Bestimmungstabelle für die Larven wird gegeben, dazu ein umfangreiches Literaturverzeichnis und ein sorgfältiges Register. Die vielen Abbildungen sind gut. In allem: ein wertvoller Teil der in schneller Folge erscheinenden Dahlschen Fauna und von mustergültiger Ausstattung wie die früheren. K. Friederichs.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Nadson, G. A. und **Krassilnikow, N. A.**, Die Struktur und Entwicklung von Pontothrix longissima Nads. et Krassil. (Chlamydothrix longissima Molisch), farblose Alge aus der Gruppe Schizophyceae. (Compt. Rend. d. l'Acad. de Sc. de l'URSS. A, No. 10. 1932. p. 243—247.) [Russisch.]

Der beschriebene Mikroorganismus wurde auf Zoster marina, aus der Bucht von Sebastopol, gefunden. Seine Fäden sind dünn, lang, nicht verzweigt, farblos, unbeweglich, bestehen aus zylindrischen Zellen von 1,5—2 $\mu \times 1—5\ \mu$. Einige Zellen verwandeln sich in Körperchen von doppelt konkaver Form — Nekriden —, die die Bildung der Hormogonien fördern. Bei Färbung mit Fe-Hämatoxylin tritt in den Zellen der Zentralkörper hervor, der dem Zentralkörper der Cyanophyceen entspricht. Außer dem Zerfall der Fäden in Hormogonien geschieht die Vermehrung durch Bildung unbeweglicher, rundlicher oder ellipsoider Gonidien, die im weiteren Verlauf keimen können.

Dieser von Molisch als Fadenbakterium beschriebene Mikroorganismus ist auf Grund der ausgeführten Beobachtungen eine farblose Alge aus der Gruppe der Schizo- oder Cyanophyceen. Verff. benennen diese Alge Pontothrix longissima und weisen auf ihre weite Verbreitung in verschiedenen Meeren hin. A. Imšenecki (Leningrad).

Saenko, N., Über den Kreislauf der Hefe. (Das Staatl. Wiss. Inst. f. Weinbau. Bd. 2. 1932. S. 1—68.) [Russisch.]

In dem Most verschiedener Gebiete der Krim wurden gefunden: Sacch. ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Torula, Mycoderma, einige Bakterien und verschiedene Schimmelpilze. Auf den Weintrauben, die in verschiedenen Monaten untersucht wurden, fehlte Sacch. ellipsoideus. Die Untersuchung der Bodenmikroflora ergab Fehlen von Sacch. ellipsoid. und Sacch. apiculatus. Die Mikroflora des Bodens enthielt Torula, die keinen Most vergärt, Bakterien und Schimmelpilze.

Auch in der Luft der Weinberge fehlt Weinhefe. Es wurde der Kreislauf der Hefezellen bei willkürlicher Versehung des Bodens mit Hefe verfolgt, zu welchem Zweck bedeutende Hefemengen verschieden tief in die Erde eingegraben wurden. Nachfolgende Bodenuntersuchungen ergaben, daß die eingegrabene Hefe im Boden überwintert und im Verlauf des Sommers bis zum August verschwindet. Diese Erscheinung steht in Verbindung mit meteorologischen Faktoren (Temperatur, atmosphärische Niederschläge usw.), da entsprechende Versuche bewiesen, daß bei Erhitzung feuchter Erde bis 60° alle Sporen der Sacch. Ludwigii abgetötet werden, während bei gleicher Erhitzung trockener Erde über die Hälfte der Zellen lebensfähig bleibt.

Zur Erforschung des Kreislaufes der Hefe wurde die Darmflora verschiedener, im Weinkeller gefundener Insekten untersucht. Es erwies sich, daß die Drosophila infolge ihrer starken Verbreitung und außerordentlich schnellen Vermehrung die Hauptrolle für die Verbreitung der Hefe spielt. Die Drosophila legt oft in beschädigte Weintrauben gleichzeitig mit ihren Eiern Hefezellen. Der Darm der sich entwickelnden Larve enthält oft verschiedene Hefezellen.

In Anbetracht dessen, daß im Sommer (Juli und August) weder auf den Weintrauben, noch im Boden oder in der Luft Sacch. ellipsoideus und Sacch. epiculatus zu finden sind, nimmt Verf. an, daß diese Hefepilze von der Drosophila aus den Kellern und von anderen Früchten auf die Weintrauben übertragen werden.

A. Imšenecki (Leningrad).

Malkow, A., Die Physiologie einiger Heferassen. (Gärindustrie. Nr. 3. 1932. S. 35—39.) [Russisch.]

Es wurde die Gärfähigkeit der Hefe, mit welcher eine Anzahl von Betrieben arbeitet, untersucht -- die Rassen S., G. und M. Die Vergärung von Saccharose, Glukose und Raffinose verhielt sich für diese Rassen: S > G > M. Melassegärung ergab die gleiche Reihenfolge. In den Versuchen mit Bierwürze ergaben die Rassen: G > M > S. Bei Untersuchung der Teighebung erwies es sich, daß die Teighebung von dem Nährboden, auf dem sich die Hefe entwickelte, abhängig ist. Die in Melasse kultivierte Hefe ergab M > G > S, in Bierwürze G > M > S. Sowohl die Assimilierung von Stickstoffsubstanzen, wie auch der ökonomische Effekt der Alkoholbildung waren verschieden, je nachdem die Hefe in Melasse oder Bierwürze kultiviert worden war. A. Imšenecki (Leningrad).

Kudrjawzew, W. I., Nadsoniomyces sphenoides nov. gen. nov. sp. Ein neuer hefeähnlicher Pilz auf der Oberfläche der Algen im fernen Osten. Vorl. Mitteilung. (Compt. Rend. de l'Acad. d. Sci. de l'URSS. A, No. 12. 1932. p. 292 – 302.) [Russisch.]

Der beschriebene Pilz wurde von der Oberfläche der Alge Laminaria japonica isoliert. In der Reinkultur aus einer Zelle entstehen Hefezellen und keilförmige Zellen. In jungen Kulturen sind hefenähnliche Zellen vorherrschend, durchschnittlich von 6,5 × 4,5 μ Größe. Sie vermehren sich durch Sprossung und mit der Zeit bilden sich in ihnen Öltröpfchen. In alten Kulturen bildet ein Teil der Zellen Dauerformen, während andere bis 36 μ lang werden und sich keilförmig gestalten. Am 9.—10. Tage bilden sich in den keilförmigen Zellen runde oder ovale Sporen (nur au

festen Nährböden), deren Zahl stark schwankt (von 1—18). Die Sporen können im Inneren der Zelle keimen, häufiger jedoch berstet die Membran der Mutterzelle. Der kultivierte Pilz verursacht Gärung der zum Algendekokt hinzugefügten Zuckerarten. Es gären nur Glukose, Mannose und Fruktose. Er wächst gut auf Mannit-Nährböden.

A. Imšenecki (Leningrad).

Meissel, M. N., Einfluß der Cyansalze auf die Entwicklung der Hefe. (Bull. de l'Acad. d. Sc. de l'URSS., Cl. d. sc. mathem. et natur. No. 9. 1932. p. 1337—1344.) [Russisch.]

Es wurde der Einfluß verschiedener Zyansalze auf die Struktur und die Rassenbildung von Saccharom. cerevisiae studiert (Germanische Rasse, XII). Bezüglich der Giftwirkung verhielten sich die Salze folgendermaßen: HgCN > NaCN > KCN > NH_4CN.

Unter dem Einfluß von Zyankali treten in der Hefezelle Strukturveränderungen ein. Diese Veränderungen entsprechen wesentlich den unter dem Einfluß der Strahlenenergie und chemischer Substanzen eintretenden Phasen der Erregung, der Depression und der Nekrobiose, die Nadson und seine Schüler studiert haben. Nach der Einwirkung konzentrierter Zyankalilösungen kultivierte Hefe gab matte, faltige Kolonien von gelblicher Farbe. Die Hefezellen dieser Kolonien waren meist von regelmäßig runder oder amöboider Form. Verf. fand oft in äußerlich gleichen Kolonien (glatten oder faltigen) Zellen von ganz verschiedener Form und Struktur. Die gewonnenen Modifikationen, Saltante (Nadson) unterschieden sich nicht allein in der Form der Zellen, sondern auch in bezug auf die Menge der Öltröpfchen, der Intensivität des Wachstums, ferner hinsichtlich des Glykogen- und Metachromatingehaltes, der Gelatineverflüssigung und der Gärungsfähigkeit. Aus diesen Saltanten wurden weitere, sekundäre, mit neuen biologischen Eigenschaften gewonnen.

Der Einfluß von Zyankali hat erbliche Abschwächung der vitalen Widerstandsfähigkeit einiger experimentell gewonnenen Rassen zur Folge. Die Kolonien werden erst gelblich, dann braun und ihre weitere Entwicklung hört auf. Die Hefezellen werden kleiner, die Membran dicker, das Plasma schrumpft ein und im weiteren Verlauf tritt Lysis ein. In diesen Rassen kann abermals Disassoziation mit Bildung neuer, weißer Kolonien eintreten.

A. Imšenecki (Leningrad).

Philippow, G. S., Die Rassenbildung bei Torulopsis glutinis (Torula glutinis) nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen. (Ann. de Röntg. et de Radiolog. Bd. 10. 1932. S. 510—545.) [Russisch.]

Die aus einer Zelle gewonnene Kultur wurde in sterilem Wasser der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen unterworfen, Dose 1340 R — 32 160 R. Die Beleuchtung ergab eine Anzahl neuer Rassen mit verschiedenen Eigenschaften. Nach der Farbe der Kolonien lassen sich 5 Gruppen unterscheiden: rosa, orange, gelb, gelblich-braun und weiß. Fast jede Gruppe weist schleimige und trockene Rassen auf, die ersteren mit glänzenden Kolonien, deren Zellen eine Schleimkapsel besitzen. Die Kolonien der trockenen Rassen besitzen eine glatte oder rauhe Oberfläche und bestehen aus Zwerg- oder Riesenzellen ohne Schleimkapsel. Die Rassenbildung zeigt folgende Reihenfolge: Farbige Rassen → schwächer gefärbte oder farblose; schleimige Rassen → trockene, jedoch nicht umgekehrt. Die Rassen bilden sich leichter in

alten Kulturen als in jungen, in reichlicherem Maße unter der Wirkung größerer Dosen der Röntgenstrahlen und bei wiederholter Beleuchtung, in welch letzterem Fall es sich um kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen handelt. Einige neue Rassen erwarben die Eigenschaft, eine Haut auf flüssigen Nährböden zu bilden, langgestreckte Zellen zu geben oder in den jungen Zellen Öltröpfchen zu bilden. Das Auftreten von Zwerg- und Riesenzellen war ein beständiges, sich erblich fortsetzendes Merkmal und führte zur Bildung von kleinzelligen oder großzelligen Rassen. Die morphologischen und physiologischen Merkmale der Röntgenrassen weichen so stark von den ursprünglichen Rassen ab, daß einige derselben zu verschiedenen Gattungen gezählt werden können (Eutorulopsis, Torulopsis und Mycotorula). Verf. spricht die Ansicht aus, daß in der Natur die Rassenbildung gleichfalls unter dem Einfluß äußerer Faktoren stattfindet und zur Bildung neuer, erblicher Formen führen kann. A. Imšenecki (Leningrad).

Lowig, E., Über den Einfluß der Kalisalz-Anionen auf das Myzelwachstum von Aspergillus niger. (Landw. Jahrb. Bd. 76. 1932. S. 181—210.)

Verf. untersuchte die Frage, ob an verschiedene Anionen gebundenes Kalium auch auf das Pilzwachstum verschieden wirkt, wie es für höhere Pflanzen zutrifft. Als Nährsubstrat diente die kalifreie Nährlösung nach Niklas. Dabei ergab sich, daß die wachstumsförderndeWirkung des Kaliums innerhalb der untersuchten Konzentrationen unabhängig von der Art des Anions ist. Die Wirkung des $K^{\cdot}$ ist in Konzentrationen bis zu 0,0035% am stärksten ausgeprägt und wird mit steigender $[K^{\cdot}]$ schwächer. Das Myzelwachstum ist am kräftigsten zwischen dem 2. und 4. Tage. Der K_2O- und P_2O_5-Gehalt des Myzels ist in der Jugend am größten und nimmt mit zunehmendem Alter ab. Cl' und besonders SO_4'' werden vom älteren Myzel stärker gespeichert, und zwar wird mehr SO_4'' und weniger Cl' aufgenommen als dem im Myzel gefundenen $K^{\cdot}$ äquivalent ist.

R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K. und Siebenäuger, H., Zum Chemismus der Zitronensäurebildung durch Pilze. V. Mitteilung: Die Zitronensäurebildung aus Essigsäure. (Biochem. Ztschr. Bd. 240. 1931. S. 232—244.)

Die Zitronensäurebildung aus Zucker durch Aspergillus niger scheint ähnlich wie bei der Alkoholgärung über Zwischenglieder der C 3-Reihe zu verlaufen. Der Pilz vermag sowohl aus Alkohol wie aus Essigsäure Zitronensäure zu bilden. Auch fumarsaures, äpfelsaures und glykolsaures Natrium werden in Zitronensäure verwandelt. Die durch Oxydation des Alkohols entstehende Essigsäure wird durch weitere Kondensationen und Oxydationen über Bernsteinsäure und Äpfelsäure in Zitronensäure umgewandelt. 28 Stämme von Aspergillus niger wurden zur Untersuchung der Zitronensäurebildung aus Acetaten herangezogen. Fast alle Stämme waren zu dieser Umwandlung befähigt. Die Ausbeuten an Zitronensäure betrugen bis zu 16% der umgesetzten Essigsäure.

R. Koch (Berlin).

Flor, H. H., Heterothallism and hybridization in Tilletia tritici and T. levis. (Journ. Agric. Res. Vol. 44. 1932. p. 49—58.)

Tilletia tritici und T. levis sind heterothallisch. Verf.

ging bei künstlichen Kulturen von einzelnen Kranzkörpern („Primärsporidien") aus und zeigte, daß solche Kulturen keine Infektion hervorrufen. Wird Linie A und B zusammen kultiviert, so kann mit dieser Kultur der Weizen infiziert werden, ebenso mit C + D, dagegen auffallenderweise nicht mit einer Kombination von A mit C oder D. Es gibt also bestimmte Geschlechtsgruppen, deren Individuen miteinander verschmelzen können, die aber mit Individuen anderer Gruppen nicht verschmelzen. — Es gelang, T. tritici und T. levis miteinander zu kreuzen; die hieraus hervorgegangenen Sporen hatten glattes Epispor. Riehm (Berlin-Dahlem).

Cotter, R. U., and Levine, Moses N., Physiologic specialization in Puccinia graminis secalis. (Journ. Agric. Res. Vol. 45. 1932. p. 297—316; 4 figs.)

Durch genaue Untersuchung von 150 Herkünften der Pucc. graminis secalis wurden 14 verschiedene physiologische Formen ermittelt und ihre Verbreitung in U. S. A. festgestellt. Eine Form (Nr. 11) ist besonders verbreitet und war während der vier letzten Schwarzrostjahre dreimal der wichtigste Erreger. Die Pathogenität der verschiedenen physiologischen Formen wurde durch Temperatur und Licht kaum nennenswert beeinflußt.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Miller, E. V., Some physiological studies of Gloeosporium perennans and Neofabraea malicorticis. (Journ. Agric. Res. Vol. 45. 1932. p. 65—78, 12 figs.)

In ihrem physiologischen Verhalten gegenüber verschiedenen Temperaturen, Nährstoffen und verschiedenem ph unterschieden sich beide Pilze weniger als verschiedene Stämme desselben Pilzes. Selbst bei 0° können beide Pilze keimen und Apfelfäule hervorrufen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Nikolaew, W. A., Mikrobiologie der Brotkrankheiten. (Das Wissenschaftl. Staatsinst. d. Backind. 1932. S. 1—48.) [Russisch.]

Verf. beschreibt die im fadenziehenden Brot sich entwickelnden Veränderungen und gibt eine Übersicht der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der die besprochene Krankheit erzeugenden Bakterien, nämlich Bac. mesentericus fuscus, B. mesent. vulgatus, B. mesent. panis viscosi I und II, B. liodermus Flügge, Bact. panis, Bac. subtilis wird gleichfalls beschrieben und die Resistenz seiner Sporen erörtert. Der infolge der Bakterientätigkeit entstehende Schleim besteht aus dem Bakterienschleim, der die Zoogloea bildet, und aus den Zerfallprodukten der Stärke und des Klebstoffes. Besonders werden die chemischen Veränderungen des fadenziehenden Brotes und die Untersuchungsmethoden besprochen.

Als Mittel zur Bekämpfung der Krankheit wird Hinzufügung von 0,3% Milchsäure in Vorschlag gebracht, ferner Desinfizierung des Mehls, Vernichtung des angesteckten Brotes, Aufbewahren des gebackenen Brotes in trockenem Raum, bei Temperaturen nicht über 15°; auch werden Maßregeln zur Reinhaltung der Räumlichkeiten angegeben.

Es werden noch andere Brotkrankheiten besprochen: Rot-, Gelb- und Blaufärbung und die Kreidekrankheit des Brotes; Anwesenheit der Pilze Fusarium roseum und Claviceps purpureum im Mehl,

die Vergiftung verursachen. Die Monographie umfaßt die gesamte Literatur der Frage. A. Imšenecki (Leningrad).

Névot, A., L'approvisionnement de Paris en lait, nécessité d'un contrôle hygiénique; ses méthodes; recherche du colibacille dans le lait. (Lait. T. 13. 1933. p. 111—123.)

1. In Paris besteht offiziell keinerlei Milchkontrolle und die fakultative Stallinspektion aus dem Jahre 1927 ist ziemlich illusorisch. Verf. sieht aber eine Besserung in dieser Richtung, wenn sich die fakultative Kontrolle auch auf die Milchgeschäfte erstrecken würde und wenn sich der Milchhandel seinerseits entschließen könnte, eine private Kontrolle auf die Lieferantenmilch auszuüben. Auch sollte die ganze Milchversorgung auf pasteurisierte Milch umgestellt werden; denn, wie die geschilderten Einzelheiten zeigen, läßt die in Paris angelieferte Milch sehr viel zu wünschen übrig.

2. Bei der bakteriologischen Kontrolle ist es für die Hygiene ebenso wichtig, nicht bloß nach den Krankheitserregern, sondern auch nach alltäglichen häufigen Mikrobien in der Milch zu fahnden, besonders solchen, die sich mit Vorliebe im Stall befinden. Diese sind der beste Indikator für schmutzige Milchgewinnung und meist auch die Ursache für die Verdauungsstörungen der Kleinkinder. Die in Betracht kommenden allgemeinen Methoden werden kurz erwähnt.

3. Verf. hält eine Kontrolle des Coligehaltes von Milch für besonders zweckmäßig und nützlich. Er gibt ein eigenes Verfahren an zum Nachweis der Colibakterien, das auf die Isolierung einzelner Stämme abzielt (zuerst 6—8 Std. Anreicherung in der Ausgangsmilch bei 37° C, dann Abimpfen davon in Phenolpeptonbouillon, 24 Std. bei 41,5° C bebrüten, davon 1 Tropfen in phys. Kochsalzlösung aufschwemmen, dann mit einer Öse Röhren mit Kufferaths mineralischer Nährlösung beimpfen und wieder 24 Std. bei 41,5° C bebrüten. Von den positiv ausgefallenen Röhren werden endlich Agarplatten gewöhnlicher Zusammensetzung hergestellt zwecks Reinigung der zu untersuchenden Stämme. Mit diesen Reinkulturen wird die Indol-, Neutralrot- und Bleiazetatprobe angestellt). An Hand dieses Vorgehens gelang es dem Verf., in 43,18% der untersuchten Proben Colibazillen zu finden. Dauerpasteurisierungsversuche bei 65° C mit 10 von diesen Proben ergaben völlige Colifreiheit. (Für die praktische Milchkontrolle dürfte dieses Verfahren etwas umständlich sein, besonders bei Serienuntersuchungen. Die umfangreiche nichtfranzösische Literatur über dieses Gebiet scheint dem Verf. unbekannt zu sein. D. Ref.)

Demeter (Weihenstephan).

Porcher, Ch., Reflexions sur la pasteurisation. (Lait. T. 13. 1933. p. 3—60.)

Die Arbeit befaßt sich mit folgenden Punkten: 1. Begriff und Zweck der Pasteurisierung. 2. Durchführung der Pasteurisierung. 3. Methoden und gebräuchliche Apparate. 4. Flaschenverkauf. 5. Zwangspasteurisierung.

Zu 1. Milchpasteurisieren bedeutet die Zerstörung eines Großteils der saprophytischen und der Gesamtheit der pathogenen Flora durch Hitzeeinwirkung unter möglichster Wahrung der natürlichen Struktur der Milch und ihres Nährwertes. Es darf heute nicht mehr gesagt werden: „Die Pasteurisierung ist ein notwendiges Übel“; denn sie kann heute in der Weise durchgeführt werden, daß unter Vernichtung eines Teils der ursprünglichen Flora

keine merkliche Veränderung der feineren chemischen Struktur und biochemischen Elemente der Milch eintritt. Pasteurisierte Milch gleicht also tatsächlich einer rohen Milch, die von gesunden Tieren reinlich gewonnen wurde. — Zu 2. Die Pasteurisierung ist nicht ein einzelner Vorgang, sondern eine Vielheit von Dingen, die ihr notwendigerweise vorausgehen oder nachfolgen müssen. Zunächst muß die zur Pasteurisierung bestimmte Milch entsprechend ausgewählt und dann filtriert werden, nach der Erhitzung muß sie sofort wieder auf eine niedrige Temperatur gebracht und auf dieser bis zur Ablieferung an den Verbraucher gehalten werden. Der Transport geschieht am besten in Flaschen. Gefahrenquellen sind: Schwankungen in der Erhitzungsdauer und Temperaturhöhe (Anfangsmilch!), Schaumbildung, nachträgliche Infektion, herbeigeführt entweder schon in der Molkerei, durch den Zwischenhändler oder den Verbraucher. — Zu 3. Es werden folgende Verfahren besprochen: a) Hochpasteurisierung während 1—2 Min. bei 80—85° C; diese ist wegen verschiedener Mängel abzulehnen. b) Die Dauerpasteurisierung, ½ Std. bei 62,8° C; auch hier gibt es eine Menge Dinge zu beachten, um sie wirksam und die Milch für den Handel brauchbar zu machen. c) Die Biorisierung: Das Versprühen der Milch und kurze Erhitzen bei 75° wirkt sich sehr gut auf die Rohmilcheigenschaften der Milch aus. d) Die Stassanisierung: Die 15 Sek. dauernde Erhitzung der Milch in äußerst dünner Schicht (1 mm) hat neben den unter c) genannten Vorteilen noch den Vorteil, aus der Milch nicht die für die Erhaltung des chemischen Gleichgewichtes wichtige Kohlensäure entweichen zu lassen. e) Die kurzfristige Erhitzung bei höherer Temperatur. Sie ist ein sehr unklarer Begriff, da weder die Temperaturhöhe noch die Dauer der Hitzeeinwirkung darin definiert ist. Ihr Wesen besteht in der Hauptsache darin, daß die Dauer der Erhitzung gekürzt und zum Ausgleich dafür die Temperatur erhöht werden soll. Wegen ihrer Unbestimmtheit auch bezüglich der Art und Weise der eigentlichen Erhitzung und der Dicke der Milchschicht, müssen die bis jetzt unter dieser Rubrik eingereihten Apparate anders eingeteilt und mit ähnlichen, bereits festgelegten Systemen in Beziehung gebracht werden. Verf. stellt selbst ein solches Schema auf, das im Original nachgesehen werden muß. Es werden dann die verschiedenen Apparate besprochen einschließlich der Vorerhitzungssysteme. Zu 4. Für den Handel mit pasteurisierter Milch ist der Verkauf in Flaschen das einzig Gegebene. Der einzige Nachteil ist nur das große Gewicht, das dabei während des Transportes in Kauf genommen werden muß. Unumgänglich notwendig ist auch die einheitliche Normung der Milchflaschen. — Zu 5. Eine Zwangspasteurisierung ohne den Zwang, die pasteurisierte Milch nur in Flaschen abzugeben, hält Verf. für ein Unding.

Demeter (Weihenstephan).

Stassano, Henri, Des critériums dont on devrait s'inspirer et des méthodes que l'on devrait suivre dans l'appréciation d'un procédé de pasteurisation du lait. (Lait. T. 13. 1933. p. 85—110.)

Die Gesichtspunkte, nach denen die Wirkung der einzelnen Erhitzungssysteme beurteilt werden sollen, teilt Verf. in drei Gruppen ein wie folgt: Gruppe 1: Betrifft Haltbarkeit für Handelszwecke und hygienischen Zustand (Geschmack, Prozentsatz hitzekoagulablen Eiweißes, Dauer des Frischezustandes,

allgemeine Keimzahl, Azidität nach Bebrütung der erhitzten Proben bei 30—37° C, Bestimmung des Coli-Titers, Vorhandensein von Mastitisstreptokokken und hämolytischen Streptokokken, Abtötung der Tuberkelbazillen in einer natürlicherweise mit Tuberkulose behafteten Milch). Gruppe II: Betrifft die Milch selbst (Physikalisch-chemischer und biologischer Charakter mit besonderer Berücksichtigung der Viskosität, ph, löslichen Fermente usw., Labfähigkeit, Aufrahmungsfähigkeit, Erhaltung der Kohlensäure, Bestimmung des Gasgehaltes und der Azidität vor und nach der Erhitzung, Belüftung, bakterizide und immunisatorische Eigenschaften, Vitamine, Prüfung auf Stoffwechselprodukte thermophiler Mikroorganismen). Gruppe III: Betrifft die ökonomische Seite (Wasser- und Dampfverbrauch, Reinigungsmöglichkeit, Ansprüche an Platz und zusätzlicher Einrichtung, Amortisation). — Elf von diesen Gesichtspunkten faßt Verf. folgendermaßen zu Mindestforderungen für die Anerkennung eines Milchpasteurisierungsapparates zusammen: 1. kein Kochgeschmack; 2. günstige Proportion des hitzekoagulablen Eiweißes; 3. gute Haltbarkeit; 4. nur geringfügige Erhöhung der Azidität bei Bebrütung der erhitzten Milch innerhalb 3—5 Std.; 5. Abtötung von B. coli; 6. Abtötung von Mastitisstreptokokken und allen hämolytischen Streptokokken; 7. Sanierung einer auf natürliche Weise mit Tuberkeln infizierten Milch; 8. unveränderte Azidität nach erfolgter Erhitzung; 9. gute Erhaltung der Labfähigkeit; 10. Erhöhung der Aufrahmfähigkeit; 11. positive Peroxydasereaktion nach Storch.

Demeter (Weihenstephan).

Plewako, E. A. und **Kinsburskaja, F. M.**, Aktivierung der Alkoholgärung durch Adsorbentien. (Mikrobiologie. Bd. 1. H. 4. 1932. S. 399—412.) [Russisch.]

Als Adsorbentien wurden der Untersuchung unterworfen Silikagel, Talk, Lehm, Infusorienerde, Knochen- und Holzkohle. Es ergab sich, daß alle diese Substanzen die Alkoholgärung fördern, und zwar übt Holzkohle die stärkste aktivierende Wirkung aus. Bei Hinzufügung von Holzkohle wird in den ersten 24 Std. verstärkte Sprossung der Hefezellen beobachtet. Die stärkste Wirkung wurde bei Hinzufügung der Kohle 24 Std. vor der Gärung erreicht; wurde die Kohle 24 Std. nach Beginn der Gärung hinzugefügt, so fiel die aktivierende Wirkung aus. Mit Adsorbentien wird der Gärungsprozeß schneller zu Ende geführt, als in den Kontrollproben. Verschiedene Kohlearten besitzen nicht gleiche aktivierende Kraft; die aktivierende Kraft ist um so höher, je stärker die Konzentration der Maische ist. Die Alkoholgewinnung kann um 4—6% erhöht werden. Die günstigsten Ergebnisse wurden mit 0,1—1% Kohle gewonnen. Versuche, die sich den Betriebsbedingungen näherten, bestätigten die Ergebnisse der Untersuchung.

A. Imšenecki (Leningrad).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 6. September 1933.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 5|7.
Ausgegeben am 20. Oktober 1933.

On the Products of Fermentation by Mucor Group.

Part II.

The Products of Fermentation in Presence of Ca-carbonate.

[The College of Agriculture, Imperial University of Tokyo, Japan.]

By **Teizo Takahashi** and **Toshinobu Asai.**

It is most common and natural, that the products of fermentation of microbes always differ, in presence of carbonate in the medium, from that of plain medium namely in absence of carbonate. Among products, inter alia, acids are catched by carbonate and most advantegeously by calcium carbonate. By this way, Fernbach (1) found pyruvic acid in the fermentation products of Mucor. S. Kato's (2) research on the formation of pyruvic acid by Mucor amylomyces confirmed the occurrence of 0.22—0.33 g. of the acid stated in 100 c. c. of the culture, which contained Ca-carbonate, in spite of only 0.01—0.02 g. of the same were found in absence of carbonate.

Authors conducted in the same way on the products of five species of Mucor and attained the results tabulated below:

Species of mould	Source of nitrogen	Growth of fungus g. in 100 c. c.	Acetaldehyde g. in 100 c. c	Ethyl alcohol g. in 100 c. c.	Pyruvic acid. g. in 100 c. c.	Succinic acid. g. in 100 c. c.	Lactic acid.	Sugar remained g. in 100 c. c.
M. plumbeus	Peptone . . .	0.879	0.0168	1.39	0.0178	0.2440	+	0.082
	Am-sulphate .	0.634	0.0051	1.06	0.0984	0.1425	+	0.305
M. corymbifer	Peptone . . .	0.817	0.0176	1.12	0.0256	0.2132	+	0.038
	Am-sulphate .	0.641	0.0084	0.80	0.0304	0.1129	+	0.047
M. H. 79 Yamazaki	Peptone . . .	0.889	0.0284	1.12	0.1042	0.3600	+	0.010
M. recemosus	Peptone (0.3%)	0.640	+	1.44	—	0.0732	+	0.205
	Am-sulphate (0.3%) . .	0.580	+	1.28	—	0.0478	+	. . .
M. pusillus	Am-sulphate .	**1.740**	+	**0.16**	Trace	Trace	—	**0.521**

As is seen from the table five species of Mucor produce aldehyde, ethyl alcohol, pyruvic acid, succinic acid and a trace of lactic acid, except one case of M. pusillus. The increase of acid catched by calcium carbonate was not noteworthy. Peptone was more suitable source of nitrogen than ammonium sulphate for these moulds in regard to their growth and production of alcohol and acids.

Such relationship between two compounds could not hold in the other microbes, as we have observed already quite opposite instance by Rhizopus culture (3).

Experimental.

1.) Five species of Mucor were used viz: As acid producer M. plumbeus, M. corymbifer and Mucor H. 79 Yamazaki and as its mediate producer M. racemosus and as poor ones M. pusillus.

2.) Nutrient medium: Glucose (Merck) 10 g., peptone (or Am-sulphate) 0.5 g., K_2HPO_4, KH_2PO_4 each 0.015 g., $MgSO_4$, $CaCl_2$ each 0.010 g., Fe_2Cl_6, NaCl each trace, $CaCO_3$ 2.5 g., distilled water 100 c. c.

3.) The temperature and duration of incubation: 60 days at 28—33° C.

4.) The surface of growth was moist, showing submerged developement.

5.) The mode of analysis.

a.) The growth of fungus.

It was separated from the medium and weighed after drying at 100° C., provided a complete washing of adhered medium.

b.) The detection and determination of aldehyde.

The first part of the steam distillation of the cultured medium reduced Fehling's solution, Schiff's decolorized fuchsin and Tollen's ammoniacal silver-nitrate. It gave also a yellow precipitate by Nessler's reagent and blue colour by dimethylamine in presence of nitroprusside of sodium (Rimini's reaction for aldehyde). The concentrated part gained by redistillation of the distillate, was added to the alcoholic solution of dimedone and the mixture thus obtained was evaporated under vacuum desiccater, in which there were found white needle shaped crystals, which were aldomedone melting at 139—141° C. (not corrected).

Quantitative determination was carried on by Ripper's method (4) catching aldehyde by means of n/50 $NaHSO_3$ solution. By multiplying the number of c. c. of n/50 $NaHSO_3$ by 0.000888, we can found the number of grams of acetaldehyde in the solution used.

c.) Ethyl alcohol.

The distillate gave iodoform when warmed (5), so that by the redestillation from this that part which boiling at 78—83° C. was collected. From this distillate water was removed by means of lime, and dinitrobenzoic ester and phenyl carbamic ester were prepared thus:

1.) 3—5-dinitrobenzoic ester. To small quantity of 3—5 dinitrobenzoic chloride the fluid, prepared as mentioned above, was poured and warmed in water bath at 75—85° C. After cooling there appeares white needle shaped crystals, which recrystallizing from dilute (2 : 1) methyl alcohol, gave melting point of 92—93° C. indicating that the substance is ethyl-3—5-dinitrobenzoate.

2.) Phenyl carbamic ester or Phenyl-urethane. To the fluid assumed to be ethyl alcohol, phenyl isocynate was added and the mixture was warmed in water bath. After coolig, there appeared beautiful white crystalls, which recrystallizing from ethyl alcohol melted at 50—52° C., concordant to the melting point of phenyl-urethane.

d.) Pyruvic acid or Pyroracesmic acid.

The residue of the steam distillation viz. non-volatile part of the culture was evaporated to a thick syrup and strong alcohol was poured to precipitate calcium salts of organic acids.

The precipitate thus formed, separating from the fluidal part, was treated by an excess of phosphoric acid to get the acids in free state and from these acids a part, which boiling at 70—80° C. under reduced pressure of 15—20 m. m. was collected and tested as shown below.

1.) It gave Simon's reaction (5) of nitroprusside of sodium in presence of alkali.

2.) It reduced ammoniacal silver-nitrate.

3.) It gave iodoform.

4.) It reduced Fehling's solution when warmed.

5.) It changed to orange yellow crystals when it was added to the solution of phenylhydrazine-hydrochloride. These crystals, after decolorizing by animal charcoal, altered to beautiful yellow needles when recrystallized from alcohol. It gave melting point of 183—185° C., which is given by phenylhydrazone of pyruvic acid.

Quantitative determination of pyruvic acid. To determine pyruvic acid quantitatively, free acid was prepared from definite quantity of the culture by the same way already mentioned.

The acid thus obtained was derived to iodoform by means of n/10 J-JK solution in presence of NaOH. The excess of iodine was titrated by n/10 $NaHSO_3$-solution, provided the acidification of the solution by sulphuric acid and addition of starch as an indicator (6). To the number of c. c. of n/10 J-JK-solution needed for the purpose, multiplying by the factor 0.001507 we can found the number of grams of pyruvic acid in the culture.

The way of acquireing the coefficient 0.001507 is discribed below. From the solution of pyruvic acid, containing 0.980 g. in 100 c. c. of water, 20 c. c. was taken viz. a part of solution containing 0.196 g. of the acid. This solution was titrated by n/10 J-JK solution as described above, and 13 c. c. of iodine solution was found therefrom as corresponding quantity to 0.0196 g. of pyruvic acid, so that 0.001507 is obtainable dividing the number 0.0196 by 13.

e.) Succinic acid.

This acid was obtained from the residue of pyruvic acid by ether extraction. The crystals from ether extraction gave following properties:

1.) The crystal was difficultly soluble in cold water, but easily when heated.

2.) Takahashi and Sakaguchi's reaction viz. that of perceivable by sulphuric acid in presence of resorcine or β-naphthole (7) was positive.

3.) Pyrrole reaction (8) was also positive.

4.) The solution of neutral salt gave reddish brown precipitate by ferric chloride.

5.) The purified and recrystallized plate crystals melted at 183° C.

6.) Silver succinate, obtained from neutral sodium salt by silver nitrate, dried at 110° C. gave the data shown below:

Silver succinate:
Substance taken . . . . 0.3917 g.

Silver chloride:

Substance obtained			0.3379 g.	
	Ag.	Found.	0.2543 g.	∴ 64.93%
		Calc.		65.02%
Number of titration:			Substance taken	0.1000 g
CH_2COOH	n/10 NaOH		Found.	16.1 c. c.
CH_2COOH			Calc.	16.0 c. c.

Quantitative determination. The ether extracts as above stated were changed to barium salts, which was treated by 80% alcohol to remove other salts than succinate. Pure barium succinate thus treated was dissolved in a small quantity of water acidified by sulphuric acid and extracted with ether after Sudo and Kumagawa's method. From the ether extracts, the crystals of succinic acid obtained after the removal of ether, was weighed by the common way.

f.) Lactic acid.

Among barium salts, which was prepared from ether extracts of the culture, a part of it was soluble in alcohol of 80% and this part gave the behavior as below:

1.) Uffelmann's reaction (9) was positive.

2.) Hopkin's reaction (10) was positive.

3.) It gave positive reaction for Denige's regeant (11).

4.) It gave positive colour reaction to β-naphthole in presence of sulphuric acid (12).

5.) It gave iodoform by iodine in presence of alkali (13).

6.) It has no reducing power for Fehling's solution.

7.) Simon's reaction was negative. Thus the acid under examination is no doubt lactic acid.

g.) Volatile acid.

The culture was concentrated and was treated by ethyl alcohol of 90% and the part dissolved in this alcohol was acidified by sulphuric acid and volatile acid was obtained by steam distillation.

h.) Glucose remained after the growth of the mould.

It was determined by Bertrand's method about the same part, which volatile acid was gained.

Bibliography.

1. Fernabach, Annales de la Brasserie et de la Destillerie. 1914. W. f. B. 1914. Nr. 27. S. 268. — 2. S. Kato, Journ. of Agric. Soc. Japan. Taisho 12. 1922. No. 251. — 3. T. Takahashi and K. Sakaguchi, Journ. of Agric. Chem. Soc. of Japan. Vol. 1. 1924. No. 14. p. 1043. Taisho 14. — 4. Ripper, M. 21. 1900. p. 1079. Jersalem, Biochem. Ztschr. Bd. 12. 1908. S. 368. — 5. L. Simon, C. r. 125. 1897. p. 534. — 6. Lieben, Supplementband zu Liebigs Annalen. Bd. 7. 1870. S. 218, 377. Hager, Pharm. Zentralbl. Bd. 153. 1870. — 7. T. Takahashi and K. Sakaguchi, Journ. of Agric. Chem. Soc. Japan. Vol. 1. 1924. No. 14. p. 1043. Taisho 14. — 8. Neuberg, Ztschr. f. Physiol. Chem. Bd. 31. 1901. S. 574. — 9. Uffelmann, Pharm. Zentralbl. 1887. S. 582. — 10. Fletscher and Hopkins, Journ. of Physiol. Vol. 35. 1907. p. 247. — 11. Denigés, Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux. T. 49. p. 193. Ztschr. f. anal. Chem. Bd. 50. 1911. S. 189. — 12. T. Takahashi and K. Sakaguchi, Journ. of Agr. Chem. Soc. Japan. Vol. 1. 1924. No. 14. p. 1043. Taisho 14. — 13. Lieben, Ann. Chem. Suppl. 7. 1870. S. 236.

Über die Beziehungen zwischen Infektionstypus, Aufbau und Stoffwechselverlauf bei verschiedener Mineralsalzernährung der Pflanze.

Von **Karl Böning**,

unter Mitarbeit von **Elisabeth Böning-Seubert**[1]).

Mit 2 Abbildungen im Text.

Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf das Verhalten unserer Kulturpflanzen gegen parasitäre Erkrankungen ist erst in neuerer Zeit eingehender studiert worden. Aus der vorliegenden Literatur, auf die zur Vermeidung von Wiederholungen erst an entsprechender Stelle eingegangen wird, geht hervor, daß eine ganze Reihe von Parasiten sich auf verschieden ernährten Wirtspflanzen hinsichtlich des Krankheitsbildes und des Krankheitsverlaufes auffällig ähnlich verhält, so daß man zu der Annahme gedrängt wird, daß nicht in erster Linie die besonderen Eigenschaften der Parasiten für das Verhalten der Wirtspflanzen bei verschiedener Ernährung maßgebend sind, sondern eher die ernährungsbedingten Veränderungen im Aufbau und Stoffwechsel der Pflanze, welche in ganz bestimmter Weise auf das parasitische Verhältnis einwirken. Indessen sind die experimentellen Grundlagen für eine derartige Deutung der Versuchsergebnisse noch unzureichend. Die bisherigen Veröffentlichungen suchen das Problem entweder ganz allgemein zu lösen, indem sie die verschiedensten Pflanzenarten unter Berücksichtigung einzelner ihrer wichtigsten Krankheitserreger in den Kreis der Untersuchungen einbeziehen, oder beschränken sich auf einzelne Erkrankungen oder auf nahe verwandte Krankheitserreger. Dagegen ist das Verhalten einer Wirtspflanze gegen eine größere Anzahl verschiedenartiger Krankheitserreger noch nicht planmäßig untersucht worden. Und doch scheint uns eine derartige Behandlung des Problems eher zum Ziele zu führen. Durch eingehende Untersuchung einer Pflanzenart in ihren verschiedenen Ernährungsformen hinsichtlich ihres Verhaltens gegen Parasitenangriffe läßt sich erkennen, ob und inwieweit die Reaktionsweise einer jeden Ernährungsform nur für einen besonderen Fall charakteristisch ist oder eine allgemeine, vielleicht in gewissen Grenzen schwankende Eigenschaft darstellt. Erst auf derartige Feststellungen kann ein Vergleich mit den durch die Ernährung bedingten chemisch-physiologischen Veränderungen der Pflanze aufgebaut werden. Die Beschränkung auf eine Pflanzenart erleichtert hierbei die klare Erkenntnis der bestehenden Zusammenhänge, ohne die Allgemeingültigkeit der gefundenen Beziehungen auszuschließen; denn wir dürfen zweifellos annehmen, daß der Einfluß der Mineralsalze auf den Aufbau und Stoffwechsel bei allen höheren Pflanzen grundsätzlich der gleiche ist.

Auch von der praktischen Seite her besteht Veranlassung, das Problem von demselben Gesichtspunkt aus zu bearbeiten. Wenn auf Grund von

[1]) Die folgende Zusammenstellung gibt einen Überblick über eine Reihe von Arbeiten, die teilweise gemeinsam von uns durchgeführt worden sind (chemisch-physiologische Untersuchungen). Die Einzelergebnisse mit den zahlenmäßigen Unterlagen werden besonders veröffentlicht.

Untersuchungen mit einem bestimmten Krankheitserreger hinsichtlich der Düngung bestimmte Anweisungen zur Erhöhung der Widerstandsfähigkeit bzw. zur Einschränkung von Schädigungen gegeben werden können, so fragt es sich, ob derartige Vorschriften nur eine auf die betreffende Krankheit beschränkte Gültigkeit besitzen oder ob sie ganz allgemein im Hinblick auf das Verhalten gegen Krankheiten überhaupt von Bedeutung sind. Derartige Überlegungen sind es ursprünglich gewesen, die zur Inangriffnahme der vorliegenden Untersuchungen Veranlassung gaben. Das eingehende Studium der Beziehungen zwischen Ernährung und Empfänglichkeit des Tabaks für die Wildfeuerkrankheit (7) hatte ergeben, daß es möglich ist, durch entsprechende Düngungsmaßnahmen wesentlich mit zur Verminderung größerer Schädigungen beizutragen. Da aber für Tabak auch noch anderweitige Krankheiten von Bedeutung sind, schien es wünschenswert, das Verhalten verschieden ernährter Tabakpflanzen auch diesen gegenüber zu prüfen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden z. T. bereits veröffentlicht (6—9), z. T. sind sie so weit abgeschlossen, daß sie für die folgende Zusammenstellung mit herangezogen werden können. Insgesamt wurde bisher das Verhalten verschieden ernährter Tabakpflanzen gegen folgende Krankheitserreger eingehend untersucht: Thielavia basicola, Pythium debaryanum, Pseudomonas tabaci, Colletotrichum tabacum, Phytophthora nicotianae, Phytophthora tabaci, Sclerotinia sclerotiorum, Botrytis cinerea, schließlich noch gegenüber der Mosaik- sowie der Streifen- und Kräuselkrankheit.

Im folgenden seien zunächst die Ergebnisse der Infektionsversuche vom einheitlichen Gesichtspunkt aus dargestellt.

Wie sich gezeigt hat, läßt sich eine einheitliche Darstellung der Versuchsergebnisse nur erreichen, wenn die Reaktionsweise der verschieden ernährten Pflanzen auf den Parasitenangriff und nicht die mehr oder weniger große Schädigung in wirtschaftlicher Hinsicht, die damit verbunden ist, zum Ausgangspunkt gewählt wird. Dabei kommen wir am ehesten zu einer Übersicht über das Verhalten der verschieden ernährten Pflanzen, wenn wir nach dem Vorschlag von Zimmermann (63) unterscheiden zwischen der Reaktion des Wirtes gegenüber dem Eindringen eines Parasiten und gegenüber seiner Ausbreitung im befallenen Gewebe und wenn wir die Begriffe Empfänglichkeit und Widerstandsfähigkeit weniger im Hinblick auf die schließlich eintretende Schädigung als im Hinblick auf die im Gewebe des Wirtes sich abspielenden Vorgänge beziehen. Empfänglichkeit ist dann nicht so sehr die Eigenschaft, befallen zu werden, als die Eigenschaft, dem Parasitenangriff gegenüber keinen oder nur entsprechend geringen Widerstand zu leisten. Der Begriff der Widerstandsfähigkeit oder Resistenz bezieht sich dann hauptsächlich auf gewisse Vorgänge im befallenen Gewebe des Wirtes, die wir als Gegenreaktion auffassen können. Die Resistenz äußert sich in der Weise, daß nach dem Eindringen des Parasiten in das Gewebe des Wirtes für sein weiteres Wachstum ungünstige Reaktionen eintreten, die in einer wirklich aktiven Betätigung des angegriffenen Wirtes oder auch nur in einer passiven Überempfindlichkeit des befallenen Gewebes begründet sind. Die Empfänglichkeit ist wohl immer darauf zurückzuführen, daß bei einem in stofflicher Hinsicht den Ansprüchen des Parasiten weitgehend entsprechenden Aufbau des Wirtes dieser keinen oder nur geringen Widerstand gegenüber den Angriffen des ersteren leistet. Von einer Pseudoimmunität

soll gesprochen werden, wenn der Wirt infolge seiner bestimmten Beschaffenheit von vornherein keinen geeigneten Nährboden für den betreffenden Parasiten abgibt und infolgedessen auch ohne besondere Gegenreaktionen nicht oder nur in geringem Ausmaße befallen wird[1]).

Macht man die Reaktionsweise des angegriffenen Wirtsgewebes zum Ausgangspunkt für eine allgemeine Zusammenfassung und gebraucht man die für das Verhalten des Wirtes bezeichnenden Ausdrücke im obigen Sinne, so lassen sich, wenn auch der Übergang fließend ist und eine scharfe Abgrenzung den wirklichen Verhältnissen widerstrebt, doch in den meisten Fällen zwei mehr oder weniger deutliche Gruppen von Infektionstypen unterscheiden, in die die verschiedenen Ernährungsformen eingeordnet werden können. In der ersten Gruppe finden wir als charakteristische Eigenschaft ein rascheres Auftreten von Krankheitsmerkmalen, die in der Regel ein alsbaldiges Absterben des Gewebes in der Form der Nekrose herbeiführen. Damit kommt die weitere Ausbreitung der Erkrankung in vielen Fällen rasch zum Stillstand, bei Pilzen unterbleibt nicht selten jegliche Fruktifikation. Die endgültige Folge des Befalls ist eine Verschrumpfung oder Vertrocknung der Befallstelle, ohne daß der Inhalt der abgetöteten Gewebe vollständig aufgezehrt wird. Im Normalfall ist die Wirtspflanze bzw. das Gewebe in dieser Gruppe eindringungsempfänglich, aber ausbreitungsresistent, wobei letztere Eigenschaft nicht selten auf einer Überempfindlichkeit des Gewebes gegenüber dem Parasitenangriff beruht. Da das spezifische Verhalten des Wirtes besonders dann erkennbar wird, wenn der Parasit bereits eingedrungen ist, so daß also vorwiegend die Reaktion auf die weitere Ausbreitung des Parasiten im Gewebe für die Gesamtbeurteilung maßgebend ist, läßt sich diese Gruppe allgemein als resistent bezeichnen, ohne daß durch diese Benennung etwas über die Stärke der eintretenden Schädigung ausgesagt werden soll. In der zweiten Gruppe erscheinen die Krankheitssymptome später, die Zerstörung der befallenen Gewebe erfolgt langsamer und geht mehr in der Form einer Weichfäule vor sich. Im Gegensatz zur ersten Gruppe erstreckt sich der ganze Krankheitsprozeß über einen längeren Zeitraum. Die Gewebezerstörung geht hier häufiger bis zur vollständigen Aufzehrung der Zellinhaltsstoffe vor sich, so daß schließlich nur die reinen Zellwandbestandteile als weiße, zusammentrocknende Zellulosehaut übrigbleiben. Als Normalfall besteht in dieser Gruppe häufig Eindringungsresistenz, dagegen mehr oder weniger ausgeprägte Ausbreitungsempfänglichkeit, auf Grund deren als der für die Gesamtbeurteilung wichtigsten Eigenschaft die zweite Gruppe allgemein als empfänglich zu bezeichnen ist. In dieser Gruppe finden wir aber auch nicht selten eine scheinbare, meist nur auf bestimmte Entwicklungsstadien beschränkte Widerstandsfähigkeit, die aber nach der obigen Begriffsbestimmung als Pseudoimmunität anzusprechen ist. Entsprechend dem empfänglichen oder pseudoimmunen Verhalten in dieser Gruppe ist die Fruktifikation bei Pilzen entweder reichlich oder gehemmt.

Die Zugehörigkeit der einzelnen Ernährungsformen zu den beiden Gruppen wird nun vorherrschend bestimmt durch die Menge des im Nährstoffgemisch zur Verfügung stehenden Stickstoffes. Für die resistente Gruppe ist relativer Stickstoffmangel (N —), für die empfängliche Gruppe relativer Stickstoffüberschuß (N +) das Haupttrennungsmerkmal. Zwischen beiden Gruppen, bald mehr der einen, bald mehr der anderen genähert, steht ein-

[1]) Der eigentliche im Stoffwechsel begründete Unterschied zwischen Resistenz und Pseudoimmunität wird erst am Schluß der Ausführungen klar.

fache Volldüngung (V) mit sämtlichen Nährstoffen. Der resistenten Gruppe sind daher in der Regel zuzurechnen Phosphorsäureüberschuß (P +) und Kaliüberschuß (K +), der empfänglichen Gruppe Phosphorsäuremangel (P —) und Kalimangel (K —). Die Eingliederung weiterer Ernährungsformen in diese grundlegende Beziehung stößt auf weiter unten besser verständlich werdende Schwierigkeiten; es mag vorerst nur bemerkt werden, daß Kalküberschuß (Ca +) und Mineralsäuremangel (d. h. insbesondere Mangel an Cl′ [Cl —]) mehr der resistenten, Kalkmangel (Ca —) und Mineralsäureüberschuß (insbesondere Chlorüberschuß [Cl +]) mehr der empfänglichen Gruppe, allerdings meist in beiden Fällen Volldüngung näherstehend, zuzurechnen sind.

Wie bereits oben angedeutet, kann jedoch zwischen beiden Gruppen keine scharfe Trennungslinie gezogen werden. Im Gegenteil kommen mancherlei Übergänge vor, für deren Auftreten die Ursache in den Wechselbeziehungen der Nährstoffe zueinander zu suchen ist. Solche Übergänge finden sich insbesondere zwischen Kalimangel und Phosphorsäureüberschuß, sowie zwischen Kaliüberschuß und Phosphorsäuremangel, wenn wir uns auf die 6 Haupternährungsformen entsprechend den 3 wichtigsten Nährstoffen beschränken. Das soll heißen, Kalimangel kann z. B. auf Grund seiner Reaktion auf den Parasitenangriff in einem bestimmten Falle auch der resistenten Gruppe nahestehen, Phosphorsäureüberschuß der empfänglichen usw. So finden wir denn nicht selten, daß zwei Ernährungsformen die Eigenschaften der einen Gruppe besonders deutlich repräsentieren und damit den vier übrigen Ernährungsformen schärfer gegenüberstehen. Jede Ernährungsform hat überhaupt, unabhängig von der Gruppeneinteilung, zwei besonders nahestehende ähnliche Ernährungsformen, die jede in entgegengesetzter Richtung den Anschluß an die übrigen Ernährungsformen ergeben. Wir können diese Beziehungen, die auch schon von Gaßner und Hassebrauk (21) als gegenseitige Beeinflussung der Nährstoffe beobachtet worden sind und im Grunde nichts anderes als das Mitscherlichsche Gesetz der physiologischen Beziehungen (38) zum Ausdruck bringen, am besten in Form eines einfachen Schemas darstellen, in dem wir die einzelnen Ernährungsformen so anordnen, daß jedem Mangel der entsprechende Überschuß gegenübergestellt und die zugehörigen relativen Mangel- bzw. Überschußformen benachbart werden, wobei wir den Stickstoff als den im vorliegenden Falle beherrschenden Faktor in die Mitte nehmen. So erhalten wir das folgende Schema:

N-
P+ K+
V
N-Achse
K- P-
N+
P-Achse K-Achse

Schema der Nährstoffbeziehungen.

Ziehen wir sternförmig zwischen den Nährstoffsymbolen Linien, so erhalten wir eine N-, K- und P-Achse, die die Ernährungsformen jeweils in zwei Gruppen zu drei Ernährungsformen nach dem im Nährstoffgemisch vorherrschenden bzw. zurücktretenden Faktor trennen. Die beiden Empfänglichkeitsgruppen werden durch die N-Achse geschieden, und zwar in die obere resistente und die untere empfängliche Gruppe.

Diese Trennung bedeutet, wie schon angedeutet, keineswegs eine scharfe Grenze; sie muß aber vorgenommen werden, um überhaupt eine Übersicht zu ermöglichen und damit die Grundlage für ein Verständnis der vorliegenden Beziehungen zu schaffen, die zunächst von einem bestimmten Gesichtswinkel her beleuchtet werden müssen. In Wirklichkeit bestehen mancherlei Übergänge im Verhalten der einzelnen Ernährungsformen und damit auch zwischen den beiden Empfänglichkeitsgruppen bzw. zwischen den einzelnen Infektionstypen (von denen, streng genommen, jede Mangel- oder Überschußform einen besonderen Typus darstellt, die sich aber nach ihrer mehr oder weniger großen Ähnlichkeit zu verschiedenen Gruppen ordnen lassen). So kann z. B. die Resistenz in der empfänglichen Gruppe dadurch gesteigert werden, daß zu der Eindringungsresistenz noch eine verstärkte Ausbreitungshemmung tritt. Auf diese Weise kommt eine Pseudoimmunität zustande, die in besonderem Maße bei P —, meist nur zeitweise bei N + und nur selten bei K — in Erscheinung tritt. Das gegenteilige Verhalten, weitere Zunahme der Empfänglichkeit in derselben Gruppe, durch Verringerung der Eindringungsresistenz beobachtet man sehr häufig bei K —, nur selten bei P —. Von N + aus gesehen kann man auch sagen, N + kann nach K — (zunehmende Empfänglichkeit) oder P — (Pseudoimmunität) hin schwanken, und ähnlich kann auch N — nach P + (Empfänglichkeit) oder K + (Resistenz) hin sein Verhalten ändern; denn auch in dieser Gruppe kann die Gesamtresistenz durch Erhöhung der Eindringungsresistenz (bei K +, das damit den Anschluß an die empfängliche Gruppe bei P — findet) vermehrt oder durch Verringerung der Ausbreitungsresistenz (bei P + : Übergang zu K — !) erniedrigt werden.

Diese Schwankungen sind indessen nicht willkürlich, sondern vielfach entwicklungsbedingt. Sehr häufig treten z. B. die folgenden Veränderungen im Verhalten gegenüber ein und demselben Krankheitserreger in Erscheinung:

1. Verschiebung von Pseudoimmunität nach erhöhter Empfänglichkeit mit zunehmendem Alter, wie sie häufig für N + charakteristisch ist und einer Verschiebung von P — nach K — entspricht (Jugend[pseudo]-immunität-Altersempfänglichkeit).

2. Resistenzverstärkung mit zunehmender Entwicklung, die einer Verschiebung von P + nach K + (mit Übergang zu P —) entspricht und anscheinend damit zusammenhängt, daß Kali keineswegs nur in der Jugend aufgenommen wird, sondern in verstärktem Maße erst bei fortgeschrittener Entwicklung [vgl. Anderson und Mitarbeiter (2) 1932] (geringe Jugendresistenz — verstärkte Altersresistenz mit Übergang zu Alters[pseudo]-immunität).

Allgemein ausgedrückt kann man auch sagen, Veränderungen des Verhaltens gegenüber Parasitenangriffen machen sich in unserem Schema in der Regel im Sinne einer Verschiebung der Reaktionsweise in Richtung des Uhrzeigers geltend.

Derartige Änderungen im Verlaufe der Entwicklung waren besonders deutlich bei Pseudomonas tabaci und Cercospora nicotianae zu beobachten. In anderen Fällen waren die Verschiebungen weniger auffällig oder verzögerten sich stark, oder ihr Eintreten war von besonderen Umständen abhängig. Außerdem wies das Verhalten noch von Fall zu Fall Besonderheiten dahin auf, welche Glieder jeder Gruppe ihre typischsten Vertreter darstellten oder auf welcher Seite Übergänge zu dem Verhalten in der anderen Gruppe festzustellen waren. Hier zeigten sich denn

auch in der Hauptsache Unterschiede im Verhalten gegenüber den verschiedenen Krankheitserregern. So blieb z. B. in der empfänglichen Gruppe N + gegenüber Colletotrichum tabacum auch noch bei fortgeschrittener Entwicklung P — genähert: beide Glieder der Gruppe zeigten somit ein mehr pseudoimmunes Verhalten im Vergleich zu sämtlichen anderen resistent reagierenden Ernährungsformen. Ähnlich verhielten sich die beiden gleichen Glieder der empfänglichen Gruppe auch gegen Sclerotinia sclerotiorum, Botrytis cinerea und Pythium debaryanum. Bei diesen Krankheitserregern spielt nicht nur der Entwicklungszustand, sondern auch die allgemeine Vitalität der Pflanze, die wiederum von äußeren Faktoren abhängig ist, eine große Rolle, ob z. B. bei N + mehr das pseudoimmune oder empfängliche Verhalten in den Vordergrund tritt. Gegenüber Phytophthora nicotianae war dagegen N + auch schon während der Jugendentwicklung K — genähert und somit ausgesprochener empfänglich für diesen Parasiten. Weiterhin wurde auch P + in gewisser Hinsicht auf die empfängliche Seite hinübergezogen, eine Veränderung, die in gleicher Richtung auch hinsichtlich des Verhaltens gegenüber Cercospora, aber erst in vorgeschrittenem Entwicklungsstadium, erfolgte. Gegenüber den Schwächeparasiten Alternaria tenuis und Epicoccum purpurascens, die überhaupt erst bei geschwächter Vitalität des Wirtes anzugreifen vermögen, war das Verhalten ähnlich wie gegen Phytophthora. Die beiden Viruskrankheiten zeigten ähnlich wie etwa Sclerotinia in der empfänglichen Gruppe im Jugendzustand eine scheinbare Widerstandsfähigkeit, die in verlangsamter Ausbreitung der Viren zum Ausdruck kam; mit zunehmender Entwicklung fand Umkehr der Reaktionsweise zu beschleunigter Ausbreitung statt. Nur mit Einschränkungen läßt sich das Verhalten von Thielavia basicola in ähnlicher Weise eingliedern, da bei diesem Wurzelparasiten namentlich im Jugendzustand der Pflanzen noch anderweitige Einflüsse, wie z. B. direkte Wurzelschädigungen, eine Rolle spielen. Erst im Befall erwachsener Pflanzen kam hier die empfängliche Gruppe im gleichsinnigen Verhalten von N + und K — zur Geltung. Entsprechend dem Verhalten innerhalb der empfänglichen Gruppe und den bald mehr nach der einen, bald mehr nach der anderen Seite sich bemerkbar machenden Übergängen traten auch in der resistenten Gruppe entsprechende Veränderungen ein. So ergab sich mitunter in den Fällen, in denen sich P — und N + am nächsten standen, eine Annäherung von K — an die resistente Gruppe, die allerdings bei pseudoimmunem Verhalten von P — und N + praktisch stärker befallen und beschädigt werden kann als die beiden letzteren Ernährungsformen selbst, besonders wenn es sich um solche Krankheiten handelt, gegen welche die Faktoren der Resistenz wenig ausgeprägt sind. Es gilt dies namentlich für Organkrankheiten wie die Sklerotinose, in deren systemischem Verlauf bereits die Tatsache zum Ausdruck kommt, daß die Abwehrkräfte der Pflanze ihnen gegenüber gering sein müssen. Im Falle des Übergreifens der empfänglichen Gruppe auf P + kann auf der anderen Seite eine Verschiebung der resistenten Gruppe nach P — eintreten, so daß nunmehr N — und P — genähert werden. Damit tritt diejenige Kombination in den Vordergrund, die von Schaffnit und Volk (55) aus ihren Versuchen abgeleitet worden ist, die aber infolge der unsicheren Stellung von K + und P + nicht recht verständlich werden konnte und die ohne Berücksichtigung der gegenseitigen Beziehungen aller Nährstoffe auch nicht recht mit dem vorherrschenden Einfluß des Stickstoff-

faktors zu vereinbaren war. Auf Grund des obigen Schemas wird auch diese Zuordnung möglich, allerdings mehr als Grenzfall und namentlich bei Voranstellung des Infektionserfolges vor den Infektionstypus, und finden auch die scheinbaren Abweichungen der Ergebnisse von Volk (59) hinsichtlich des Verhaltens gegen Wildfeuer von unseren eigenen Versuchsresultaten eine Erklärung.

Zusammengefaßt können wir die bestehenden Beziehungen vielleicht so deuten, daß wir sagen, wir finden im wesentlichen die beiden Reaktionsweisen Empfänglichkeit und Resistenz beherrscht von dem Stickstoffaktor; in der Jugend beobachten wir häufig eine hinzutretende Abhängigkeit vom Phosphorsäurefaktor, der auf der Mangelseite eine Verschiebung zu Pseudoimmunität hin bedingt (auch K + kommt etwas von dieser Verschiebung zugute); mit fortschreitender Entwicklung wird dann eine Verschiebung durch den Kalifaktor bedingt (vielleicht im Zusammenhang mit der zunehmenden Kaliaufnahme); die empfängliche Gruppe greift damit auf P + über, die resistente auf P —. So dürfte es sich vielleicht erklären, daß P — öfters während der ganzen Entwicklung nur in geringem Maße befallen wird, weil es die beiden Eigenschaften Pseudoimmunität und Resistenz miteinander vereinigen kann, während K — während der ganzen Entwicklung anfällig bleibt, da es auch bei eintretenden Verschiebungen durch den Phosphorsäure- oder Kalifaktor sein ursprüngliches Verhalten nur in geringem Maße verändern kann.

Jedenfalls haben die Infektionsversuche ergeben, daß zwischen dem Verhalten der Pflanzen gegen Parasitenangriffe und der Zusammensetzung des Nährstoffgemisches bestimmte Zusammenhänge bestehen, die von der Art des Parasiten und dessen speziellen Ansprüchen nur bis zu einem gewissen Grade abhängig sind. Wir dürfen daher annehmen, daß die festgestellten Ernährungsunterschiede in erster Linie in besonderen Eigentümlichkeiten des Aufbaues und des Stoffwechsels der verschieden ernährten Pflanzen begründet sind, die selbst wiederum durch quantitative und qualitative Änderungen des Nährstoffgemisches hervorgerufen werden, während sie erst in zweiter Linie auf die besonderen Ansprüche der Parasiten zurückzuführen sind.

Zu ähnlichen Auffassungen sind auch bereits andere Autoren gekommen, indem sie besonderen Stoffwechselvorgängen, die durch die Düngung maßgeblich beeinflußt werden, ausschlaggebende Bedeutung für das Verhalten gegenüber Parasiten beimessen. Gassner und Hassebrauk (21) ziehen, gestützt auf die neueren Untersuchungen von Prianischnikow (49), Mothes (40), Engel (17), Mevius und Engel (36), Mevius und Dikussar (35) u. a., insbesondere Unterschiede des Eiweißstoffwechsels zur Erklärung ihrer Infektionsergebnisse mit Getreiderostpilzen heran, eine Betrachtungsweise, zu der auch schon Schaffnit und Volk (55) auf Grund ihrer Versuchsergebnisse gelangt waren. Die zentrale Stellung des Stickstoffaktors für das Problem der Empfänglichkeit der Pflanze für Parasiten geht auch aus unseren eigenen Untersuchungen eindeutig hervor, aber ebenso zweifellos müssen auch die Einflüsse von Kali und Phosphorsäure sowie auch diejenigen der übrigen Nährstoffe mit Berücksichtigung finden, soweit sie sich auf den Gesamtstoffwechsel geltend machen. Hier sind allerdings unsere Kenntnisse noch recht lückenhaft, so daß wir bis jetzt kaum in der Lage sind, uns ein einigermaßen zutreffendes Bild von den Veränderungen des Gesamtstoffwechsels unter dem Einfluß der Mineralsalzernäh-

rung zu machen, ohne das wir einen tieferen Einblick in die Beziehungen zwischen Ernährung und Verhalten gegenüber Parasiten nicht gewinnen können. Wir haben daher im Zusammenhange mit unseren Infektionsversuchen biochemische Untersuchungen in Angriff genommen, die sich auf Zuckergehalt, Stärkebildung, Stärkehydrolyse, Zellstoffgehalt, osmotischen Wert, Wassergehalt, Saftgehalt, Gehalt an löslichen N-Verbindungen, aktuelle Azidität und Pufferung der Preßsäfte sowie auf Ermittlungen im Zusammenhang mit Kulturversuchen der in Frage kommenden Parasiten auf Preßsäften und künstlichen Nährböden erstrecken, um an Hand dieser Untersuchungen bessere Einblicke in den Kohlenhydrat- und Eiweißstoffwechsel sowie den Wasserhaushalt unter dem Einfluß der Mineralsalzernährung zu erhalten. Die bisherigen Ergebnisse dieser Untersuchungen, die in der Hauptsache mit Material von herangewachsenen Pflanzen[1]) durchgeführt wurden, seien zunächst in großen Umrissen behandelt.

In bezug auf den Zuckergehalt, der in Preßsäften aus Blättern nach der Inversion als Gesamtzucker bestimmt wurde, ergaben die Untersuchungen übereinstimmend die absolut geringsten Zuckerwerte bei Phosphorsäuremangel, während bei Phosphorsäureüberschuß in den meisten Fällen die höchsten Werte gefunden wurden. Entsprechend geringere Werte wurden bei Kali- und bei Stickstoffüberschuß, höhere Werte dagegen bei Kali- und bei Stickstoffmangel festgestellt. Einfache Volldüngung lag den Werten von Kalimangel und Phorphorsäureüberschuß genähert. Verstärkte Kalkgabe bewirkte eindeutig eine merkliche Herabsetzung, Kalkmangel dagegen meist eine Zunahme des Gesamtzuckergehaltes, Chlorhaltige Düngesalze verursachten mit steigenden Chlormengen zunehmende Depression des Zuckergehaltes, Sulfate wirkten eher fördernd auf die Zuckerbildung ein, Nitrate im allgemeinen nur dann herabsetzend, wenn der Stickstoffgehalt mit ihrer Verabfolgung einseitig erhöht wurde. Ein Rückgang des Zuckergehaltes wurde auch bei Verwendung von Natriumnitrat, d. h. also bei Zugabe von Na zur Nährlösung, beobachtet. Diese Angaben gelten unabhängig von täglichen und tageszeitlichen Schwankungen, die das klare Bild der bestehenden Beziehungen nur selten zu beeinträchtigen vermochten.

Versuchen wir nun diese Ergebnisse in das obige Grundschema der Nährstoffbeziehungen einzuordnen, so ergibt sich eine Abhängigkeit des Zuckergehaltes vom Phosphorsäurefaktor. Die P-Achse des Schemas trennt die relativ zuckerarme P—Gruppe mit N + und K + von der relativ zuckerreichen P + Gruppe mit K — und N —. Auch die Wirkung des Kalkes gliedert sich zwanglos in diese Einteilung ein, wenn man das vielfach beobachtete antagonistische Verhältnis von Kalk und Phorphorsäure [Pfeiffer und Mitarbeiter (46), Ehrenberg (16), Mitscherlich (38) u. a.] berücksichtigt. Dagegen kann von einer antagonistischen Wirkung von Kalk und Kali [Hansteen-Cranner (24), Ehrenberg (16) u. a.] oder Kalk und Natron im vorliegenden Zusammenhang nicht die Rede sein. Im Gegenteil scheinen sämtliche Kationen gleichsinnig zu wirken (vgl. weiter unten die Wirkung auf den Wassergehalt).

In bezug auf den Stärkegehalt ergab sich die schwächste Bildung von allen Ernährungsformen bei K —, außerdem wiesen auch P + und Ca — häufig nur geringe Stärkebildung auf; dagegen war die Stärkebildung ge-

[1]) Wir können uns aus verschiedenen Gründen nicht der Ansicht von Gaßner und Göze (23) anschließen, die junge Pflanzen für derartige Versuche für geeigneter halten.

fördert bei P —, K +, Ca + und Cl +; N + und N — verhielten sich ungleichmäßig. Die Hydrolyse der Stärke erfolgte am raschesten bei K —, vielfach auch bei P + und N + sowie Ca —, sie erfolgte langsamer bei K +, Ca +, P —, Cl +; bei N — war das Ergebnis nicht einheitlich. Nach diesen Ergebnissen scheint der Stärkestoffwechsel, wenn wir uns zunächst auf die 3 Hauptnährstoffe beschränken, hauptsächlich von Kali und Phosphorsäure abhängig zu sein. Kali scheint mehr die Bildung, Phosphorsäure mehr die Ableitung der Stärke zu beeinflussen. Ähnliche Beobachtungen machten Schaffnit und Volk (55) bei Tomaten und Böning (5) bei Rüben, aus denen sich noch deutlicher ein gegensätzliches Verhalten von P — und N — einerseits und K — andererseits ergab. Eine Begünstigung der Stärkehydrolyse durch Phosphorsäure steht in Einklang mit den Ergebnissen von Biedermann (4), nach denen die Diastase durch Phosphate und Chloride aktiviert wird. Daß Phosphate bei enzymatischen Prozessen eine große Rolle spielen, geht u. a. auch aus ihrer Bedeutung bei der Gärung hervor [Euler, Harden, Neuberg (18)]. Eine Begünstigung der Enzymtätigkeit dürfte auch bei K — vorliegen, wo eine größere Aktivität der Diastase bei Zuckerrohr von Hartt (25), der Saccharase bei Zuckerrüben von Doby und Hibbard (15) festgestellt worden ist. Daß Kali im Gegensatz hierzu die Stärkebildung fördert, ist eine seit langem bekannte und vielfach bestätigte Feststellung, die nicht selten zu der Annahme verleitet hat, daß damit auch die assimilatorische Gesamtleistung durch Kali begünstigt werde [vgl. u. a. Remy und Liesegang (53)], eine Annahme, die durch die Ergebnisse von Briggs (11), Lundegardh (32), besonders aber durch die neueren Untersuchungen von Gassner und Göze (23) über den Einfluß der Kaliernährung auf die Assimilationsgröße von Weizenblättern sehr zweifelhaft geworden ist. Jedenfalls müssen wir in der Stärkebildung bereits einen sekundären Umwandlungsprozeß der primär gebildeten Assimilate erblicken, zu deren direkten Einbeziehung in den übrigen Stoffwechsel der vorherige Aufbau zu Stärke keineswegs notwendig ist. Eine Anhäufung von Stärke und Hemmung der Hydrolyse bei verstärkter Düngung mit chlorhaltigen Salzen wurde bereits von Garner und Mitarbeitern (20) an Tabak gefunden, die dieses Verhalten der Pflanzen nicht auf eine Hemmung der Hydrolyse durch Einwirkung auf die Enzymtätigkeit, die ja auch mit den vorhin erwähnten Feststellungen einer Aktivierung der Diastase durch chlorhaltige Salze in Widerspruch stände, sondern auf den abnorm hohen Wassergehalt der mit chlorhaltigen Salzen gedüngten Pflanzen zurückführen.

Daß Aufbau und Abbau der Stärke mit dem Wassergehalt der Gewebe auf das engste verbunden sind, haben die Untersuchungen von Molisch (39), Schröder und Horn (58), Ahrns (1), Bruns (12), Iljin (27), Neger (43) u. a. mit Sicherheit erwiesen. Nach den genannten Autoren findet bei hoher Wassersättigung der Gewebe eine Begünstigung der Bildung und Hemmung der Ableitung der Stärke statt, und demgemäß ist der Zuckergehalt ein verhältnismäßig niedriger. Umgekehrt verursachen eintretende Wasserverluste eine Erhöhung des Zuckergehaltes, hervorgerufen durch erhöhten Stärkeabbau. In ähnlicher Weise wird übrigens auch der Eiweißabbau durch Wasserdefizite begünstigt [Mothes (41)]. Von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet gewinnen die Ergebnisse der Zucker- und Stärkebestimmungen außer ihrer Bedeutung für den Kohlenhydratstoffwechsel noch eine weitere im Hinblick auf den Wasserhaushalt der Pflanze

und damit auch im Hinblick auf den für das Verhalten von Parasit und Wirt ungemein wichtigen Zustand der Plasmakolloide. In der Tat geht die obige Beziehung auch aus unseren eigenen Untersuchungen hervor. Die Merkmale größerer Wassersättigung der Gewebe, verbunden mit erhöhter Welkeresistenz, finden sich bei K +, P —, Cl + und Ca +, d. h. in der gleichen Gruppe, in der die Stärkebildung gefördert, die Hydrolyse gehemmt oder jedenfalls nicht beschleunigt wurde und in der daher der Zuckergehalt am niedrigsten ist. Dagegen finden sich weniger wasserreiche Gewebe bei geringer Welkeresistenz vor allem bei K — [Schaffnit und Volk (53), Schmalfuß (57) u. a.], Ca — und P + [Rave (50)] in der Gruppe mit geringer Stärkebildung, geförderter Hydrolyse und höherem Zuckergehalt. Einen Übergang zwischen beiden Gruppen bilden auf der einen Seite N — mit geringer Welkeneigung, aber auch geringerem Wassergehalt und auf der anderen Seite N + mit geringer Welkeresistenz und gleichzeitig höherem Wassergehalt. Diese beiden Ernährungsformen nehmen auch hinsichtlich des Zucker- und Stärkegehaltes keine eindeutige Stellung ein.

Eine weitere Bestätigung für das Bestehen dieser Beziehungen kann auch direkt aus den Unterschieden im Wasser- und Saftgehalt, ebenso in der Hydratur der Gewebe bei verschiedener Ernährung entnommen werden. Auch der Zellstoffgehalt muß in diesem Zusammenhange Berücksichtigung finden. Was den letzteren betrifft, so liegen bereits Angaben über den Zellstoffgehalt der Tabakpflanzen unter dem Einfluß der Mineralsalzernährung von Volk und Tiemann (60) vor, die mikroskopische Untersuchungen über die Ausbildung der Holzanteile im Stengel anstellten. Die Ausbildung der wasserleitenden Elemente gibt einen Maßstab für die Produktion von Wandsubstanz überhaupt, die als ein Endprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels in Form von Zellulose, Hemizellulosen und ähnlichen Substanzen namentlich in den Holzteilen der Pflanze zur Ablagerung kommt. Berechnet man aus den Angaben der beiden genannten Autoren den prozentualen Anteil des Holzkörpers am Gesamtdurchmesser, so kann man die einzelnen Ernährungsformen in eine zellstoffreiche und in eine zellstoffarme Gruppe einteilen. Die erstere umfaßt die Glieder P +, N —, K +, die letztere die Glieder N +, K —, P —, die jeweils in der Reihenfolge abnehmenden Holzzylinderanteils am Gesamtdurchmesser aufgeführt sind. Außerdem war die Wanddicke bei P — absolut am geringsten, bei P + am höchsten; weitere Differenzierungen zwischen den übrigen Ernährungsformen waren nicht möglich. Einfache Volldüngung ergab einen zwischen beiden Gruppen sich bewegenden Wert. Die obige Einteilung folgt auf Grund unseres Schemas vorwiegend dem Stickstoffaktor entsprechend; es scheint, daß aber auch der Phosphorsäurefaktor, wie aus der Stellung von P —, P + und K + zu vermuten ist, eine Rolle spielt, was auf Grund der Bedeutung der Phosphorsäure für die Zuckerbildung nicht zu verwundern ist.

Die Trockengewichtsbestimmungen von Blättern verschieden ernährter Pflanzen ergaben im allgemeinen eine Zunahme des Wassergehaltes mit steigendem N-Gehalt von N — an und mit steigendem Kaligehalt von geringen Kaligaben ab, dagegen eine Abnahme mit steigendem Phorphorsäuregehalt von P — ab. Extremer Kalimangel erreichte meist nicht den höchsten Gehalt an Trockensubstanz in der Kalireihe, sondern zeigte im Vergleich mit geringen Gaben wieder einen leichten Abfall. Demnach wiesen K +, N + und P — den höchsten, N —, P + und K — den niedrigsten Wassergehalt auf. Der geringe Wassergehalt bei K — deckt sich mit den Befunden

von Burell (13), Hartt (25), Janssen und Bartholomew (28), Schaffnit und Lüdke (56), sowie Schmalfuß (57) und steht in Einklang mit der Deutung, die dem Kalium eine hervorragende Rolle bei der Wasseraufnahme in die Zelle zuspricht. Berücksichtigt man jedoch alle 3 Hauptnährstoffe, so ergibt sich in bezug auf den Wassergehalt eine der P-Achse entsprechende Gruppierung der Ernährungsformen, die allerdings auf eine gleichsinnige Wirkung von Kali und Stickstoff zurückzuführen sein dürfte. Interessant ist wiederum das Verhalten von Ca. Ca — gehört der wasserarmen, Ca + der wasserreichen Gruppe an, d. h. Ca gliedert sich wie hinsichtlich des Zucker-Stärkegehaltes dem Kalk-Phosphorsäureantagonismus entsprechend ein, während Kalk und Kali im gleichen Sinne wirken.

Etwas andere Beziehungen ergeben sich, wenn der Saftgehalt der Blätter verschieden ernährter Pflanzen zum Vergleich herangezogen wird. Unter Saftgehalt wird die Saftmenge verstanden, die unter Anwendung eines bestimmten Druckes (200 Atm.) aus den Blättern herausgepreßt werden kann (in unseren Versuchen der Saft aus in verschlossenen Gläsern auf 100° C erhitzten Blättern). Es erwiesen sich als saftreich P —, N +, K — und Ca +, als saftarm P +, N — und Ca —; K + bildete den Übergang zwischen beiden Gruppen. Haben wir uns den Wassergehalt als vornehmlich durch Stickstoff und Kali beeinflußt vorgestellt, so finden wir hinsichtlich des Saftgehaltes in erster Linie eine Abhängigkeit vom N-Faktor. Daß aber auch diese Abhängigkeit keine ausschließliche ist, ergibt sich aus der Stellung von Ca + und Ca — sowie aus der deutlichen Übergangsstellung von K +. Außerdem wäre noch die Einwirkung von Cl' und SO_4' zu erwähnen, die im Vergleich zu NO_3' eine Erhöhung des Saftgehaltes hervorrufen.

Besondere Beachtung verdient das Verhalten von Kalimangel und Kaliüberschuß. Da Kalimangel bei hohem Saftgehalt einen verhältnismäßig niedrigen Wassergehalt aufweist, so muß der Saft reich an gelösten Stoffen sein. Diese Folgerung stimmt mit den Befunden insofern auch tatsächlich überein, als bei K — reichliche Mengen an Zucker und, wie wir weiter unten sehen werden, löslichen N-Verbindungen im Saft auftreten. Der hohe Saftgehalt spricht außerdem für einen verhältnismäßig geringen Wassergehalt des Plasmas und der Wandsubstanz, die sich demgemäß in einem Zustand stärkerer Entquellung befinden müssen. Demgegenüber steht Kaliüberschuß mit höchstem Wasser- und mittlerem Saftgehalt; hier müssen Plasma und Wandsubstanz einen erhöhten Hydratationszustand aufweisen. Ähnliche Verhältnisse dürften zum mindesten auch bei P — (im Gegensatz zu P +, das sich mehr an K — anschließt), vielleicht auch bei N + im Jugendzustande vorliegen, während für das gleiche Ergebnis der Untersuchungen bei Ca + eine andere Deutung gesucht werden muß. Kalzium dürfte zwar einerseits infolge seiner entquellend wirkenden Eigenschaften die Wasseraufnahme erschweren, andererseits aber durch sein hohes Wasserbindungsvermögen die Geschwindigkeit der Wasserabgabe hemmen und damit zur Erhaltung eines günstigen Wasserzustandes der Gewebe beitragen. Diese Annahme steht allerdings nicht in Einklang mit den Auffassungen von Hansteen-Cranner (24), Reed (52), Kisser (31), Schmalfuß (57) u. a., nach denen K und Ca genau gegensätzlich auf den Wasserhaushalt einwirken sollen; aber diese Anschauung läßt sich nach unseren Untersuchungsergebnissen nicht in dieser Form aufrechterhalten.

Unter den gleichen Gesichtspunkten können wir auch die Hydratur der Pflanze bei verschiedener Ernährung betrachten. Unsere kryoskopischen

Untersuchungen, die wir nach der Methode von Walter (61) ausführten, ergaben innerhalb der Kalireihe die höchsten osmotischen Werte bei K +, die niedrigsten bei K —; innerhalb der Phosphorsäurereihe lagen die Verhältnisse umgekehrt, innerhalb der Stickstoffreihe nahmen in der Jugend bis zur Vollentwicklung die osmotischen Werte mit steigendem N-Gehalt zu. Während nun bei N + Ernährung der osmotische Wert sich bis zum Abschluß der Entwicklung auf ungefähr gleicher Höhe hielt, stieg er bei N — Ernährung stetig an, so daß zur Zeit der Reife der Pflanzen die mangelhaft mit N ernährten sogar einen etwas höheren osmotischen Wert hatten als die mit hohen Gaben ernährten. Auch bei P + erfolgte im Laufe der Entwicklung ein langsamer Anstieg. Eine Erhöhung des osmotischen Wertes war demnach dann zu beobachten, wenn ein Überschuß an leicht permeirenden Ionen im Nährsalzgemisch vorhanden war (bei K +, N + und P —). Mit den vorhergehenden Untersuchungsergebnissen verglichen sind das auch jene Glieder der Ernährungsreihe, die einen erhöhten Wassergehalt aufweisen. Die Möglichkeit einer vermehrten Salzaufnahme begünstigt demnach auch den Wassergehalt der Pflanzen[1]). Umgekehrt ist es bei K — und bei P + und N — im Jugendzustand, wo gleichlaufend eine Verminderung des osmotischen Wertes mit einer Verringerung des Wassergehaltes anzutreffen ist. (Die allmähliche Erhöhung des osmotischen Wertes bei N — und P + Ernährung bei gleichbleibend geringem Wassergehalt ist vermutlich auf die stetig xeromorpher werdende Struktur und auf einen anteilmäßig immer mehr zunehmenden Kaligehalt zurückzuführen.) Somit ergab sich unter Zugrundelegung unseres Schemas im Jugendstadium ein vorherrschender Einfluß des P-Faktors, bei fortgeschrittener Entwicklung hatte anscheinend ein Hervortreten des K-Faktors eine Verschiebung zur Folge. Die obige Beziehung hinsichtlich des osmotischen Wertes und des Wassergehaltes gilt auch für die Anionen der Mineralsäuren. Sulfat- und Phosphationen, die den Wassergehalt nur in geringem Maße erhöhen, bewirken auch keine Steigerung des osmotischen Wertes im Gegensatz zum Chlorion, das eine stärkere Zunahme des Wassergehaltes hervorruft. Nitrat bedingt vornehmlich im Jugendstadium der Pflanzen eine Erhöhung des osmotischen Wertes der Preßsäfte; während dieses Entwicklungsstadiums ist auch der Wassergehalt ein höherer. Ein abweichendes Verhalten ergab sich indessen hinsichtlich der Wirkung von Kalzium: Ca — Pflanzen hatten höhere, Ca + Pflanzen niedrigere osmotische Werte. Dies dürfte mit der eigentümlichen Wirkung des Ca″ auf die Wasser- und Salzaufnahme und Wasserabgabe zusammenhängen. Zum genaueren Verständnis der Beziehungen zwischen osmotischem Wert und Mineralsalzernährung müssen wir berücksichtigen, daß sowohl Kationen wie Anionen des Nährstoffgemisches je nach ihrer Adsorbierbarkeit, ihrem Eindringungsvermögen, ihrem Hydratationsbestreben und ihrer Einwirkung auf den Quellungszustand der Kol-

[1]) Diese zunächst vielleicht etwas auffällige Beziehung wird verständlich, wenn man berücksichtigt, daß eine erhöhte Salzaufnahme nicht nur die osmotischen Verhältnisse des Zellsaftes, sondern auch die Quellung der Kolloide beeinflußt. Der Wassergehalt der gesamten Pflanzensubstanz ist aber nicht nur von dem im Zellsaft enthaltenen Wasser, sondern auch von dem Quellungswasser der Kolloide abhängig. Die obige durch die verschiedene Mineralsalzernährung bedingte Beziehung darf nicht verwechselt werden mit der Abhängigkeit, die zwischen osmotischem Wert und den Schwankungen des Wassergehaltes unter gleichen Ernährungs- und Standortsverhältnissen besteht. Hier bedingt im allgemeinen eine Abnahme des Wassergehaltes infolge verstärkter Wasserabgabe eine Erhöhung des osmotischen Wertes, d. h. also in diesem Falle gilt die einfache physikalische Beziehung zwischen Wassergehalt und osmotischem Wert.

loide entweder direkt oder indirekt den osmotischen Wert erhöhen oder herabsetzen. Je nach der Zusammensetzung des Nährstoffgemisches können in einem Falle mehr die Kationen, im anderen mehr die Anionen in der Aufnahme begünstigt sein [Pantanelli (45), Rippel (54), Redfern (51), Hoagland (26), Maiwald (33) u. a.], trotzdem kann im Endergebnis die gleiche Einwirkung auf den osmotischen Wert erfolgen. Wir müssen uns hier auf einen Hinweis beschränken, auf weitere Einzelheiten gehen wir an anderer Stelle näher ein.

Auf Grund des Wasserhaushaltes und des damit in engster Beziehung stehenden Kohlenhydratstoffwechsels unter dem Einfluß der Mineralsalzernährung ergeben sich nun bereits deutliche Zusammenhänge mit der Reaktionsweise gegen Parasitenangriffe. Die Gruppierung der physiologischen Typen unter Zugrundelegung der bisher behandelten Untersuchungsergebnisse erfolgt jedoch vorwiegend in Abhängigkeit von dem Phosphorsäure- oder Kalifaktor, und demgemäß finden vorläufig hauptsächlich diejenigen Übereinstimmungen und Übergänge im Verhalten der einzelnen Ernährungsformen eine Parallele im Stoffwechsel, die als Einwirkungen des Phosphorsäure- bzw. Kalifaktors auf die Hauptgruppierung gedeutet worden sind, wie z. B. die Veränderungen im Verhalten mit zunehmender Entwicklung, die engere Zusammengehörigkeit von P — und N + in bestimmten Fällen als pseudoimmune oder von K — und N + als stärkst empfängliche Glieder der empfänglichen Gruppe, die Übergänge im Verhalten zwischen K — und P + und zwischen P — und K + usw. Dagegen finden sich bis jetzt nur in geringerem Ausmaße, so hinsichtlich des Zellstoffgehaltes, bis zum gewissen Grade auch des Saftgehaltes, deutliche Beziehungen zur Hauptgruppeneinteilung. Da für diese Einteilung jedoch in erster Linie die Stellung zum Stickstoffaktor entscheidend war, so läßt sich vermuten, daß entsprechende Beziehungen auch in größerem Umfange im Stickstoff-Stoffwechsel gesucht werden müssen, allerdings nicht ausschließlich, sondern nur unter Berücksichtigung der Zusammenhänge mit dem Gesamtstoffwechsel.

Bereits aus unseren Untersuchungen über die Pufferung von Preßsäften verschieden ernährter Pflanzen (10) konnten wir Schlüsse auf den Stickstoffstoffwechsel ziehen. So mußte aus der verhältnismäßig umfangreichen Pufferung der Säfte von Kalimangelpflanzen auf verhältnismäßig große Mengen von löslichen N-Verbindungen geschlossen werden. In gleicher Weise wurde die besonders starke Pufferung der Säfte von Phosphorsäuremangelpflanzen zu deuten versucht. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der neueren Forschungen über den Stickstoffumsatz der höheren Pflanzen, nach denen bei relativem N-Überschuß und Mangel an Kohlenhydraten eine Steigerung des Anteils kohlenstoffärmerer N-Produkte an den gesamten N-Verbindungen eintritt [Mothes (40), Engel (17), Mevius und Engel (36) u. a.]. Für Kalimangel wurde ein vermehrter N-Gehalt im Vergleich zu mit normalen oder verstärkten Kaligaben gedüngten Pflanzen von Mevius und Dikussar (35), Burell (13), Jansson und Bartholomew (28), Nightingale (44), Schaffnit und Lüdke (56) und Schmalfuß (57) nachgewiesen. Der letztgenannte Autor konnte auch bereits zeigen, daß bei Kalimangel das Verhältnis von Eiweißstickstoff zu löslichem Stickstoff zugunsten des letzteren verschoben sein kann. Die kürzlich veröffentlichten Untersuchungen an Preßsäften von Kartoffelknollen von Stiehr (62) haben gleichfalls eine Erhöhung der Amideiweißverbindungen bei Kalimangel ergeben.

Es kann aber auch, was auf Grund des relativen Zuckerreichtums und des weniger in Richtung Wandsubstanz erfolgenden Aufbaus der Kohlenhydrate nicht verwunderlich erscheint, ein relativ hoher Eiweißgehalt bei Kalimangel auftreten. Bei Phosphorsäuremangel dürfen wir aber auf Grund der Zuckerarmut mit einem besonderen Reichtum von löslichen N-Verbindungen bei relativer Eiweißarmut rechnen, während N-Überschuß eine Mittelstellung mit hohem Anteil sowohl an löslichen als auch unlöslichen N-Verbindungen einnehmen dürfte.

In dieser Richtung ausgeführte Analysen, die in liebenswürdiger Weise von Herrn Reg.-Rat Dr. Ibele[1]) vorgenommen wurden, bestätigten die Annahme, daß der Preßsaft von N +, P — und K — Pflanzen besonders reich an löslichen N-Verbindungen (NH_3-N und Amido-N) ist im Gegensatz zum Preßsaft von K +, P + und N — Pflanzen. Ca- steht der ersten, Ca + der zweiten Gruppe näher. Die höchsten Werte für beide N-Fraktionen ergaben sich für N + und P —, bei K + fiel verhältnismäßig hoher Gehalt an NH_3-N, bei N — ziemlich hoher Gehalt an Amido-N auf. Eine Analyse des Eiweißstickstoffes der ganzen Pflanze konnte bisher noch nicht erfolgen. Wir dürfen jedoch mit einer Gruppierung der Reihen nach dem Phosphorsäurefaktor rechnen, einer Gruppierung, die man z. B. auch aus den Analysenergebnissen von Schaffnit und Lüdke (56) herauslesen kann. Die beiden Autoren fanden bei Sommerweizen den geringsten Eiweißgehalt bei N — und P —, bei P + lag der Eiweißgehalt mindestens ebenso hoch oder sogar über demjenigen von N + und K — Pflanzen. Dieser Befund wird unter Berücksichtigung der bedeutenden Rolle, die die Phosphorsäure im Kohlenhydratstoffwechsel spielt, verständlich. Bei N — wird geringer Eiweißgehalt auf den geringen N-Gehalt überhaupt zurückzuführen sein, bei P — dürfte der geringe Gehalt aber eher darauf beruhen, daß es an Kohlenhydraten zum Eiweißaufbau fehlt. Der relativ hohe Gehalt bei P + wird sich umgekehrt aus den reichlich vorhandenen Kohlenhydratmengen erklären, die zum Aufbau kohlenstoffreichster N-Verbindungen drängen, während bei N + die gebildete Eiweißmenge durch die zur Entgiftung und Festlegung des Ammoniaks benötigte Kohlenhydratmenge begrenzt wird.

Oben wurde bereits erwähnt, daß Schlüsse hinsichtlich des Gehaltes an löslichen N-Verbindungen aus den Pufferungskurven der Preßsäfte gezogen werden können. Es konnte dies namentlich aus der Pufferung der Preßsäfte von Kali- und Phosphorsäuremangelpflanzen gefolgert werden. Bei den übrigen Ernährungsformen war dies nicht ohne weiteres möglich, da die Pufferung als Resultante antagonistischer Wirkungen nur in besonderen Fällen derartige Folgerungen zuläßt. Die Pufferkurven von Preßsäften können aber in manchen Fällen dadurch weiter analysiert werden, daß man Pilze auf den Säften kultiviert und die hierdurch bewirkten Änderungen in der Pufferung untersucht. Wenn auch diese Änderungen im einzelnen sehr vielgestaltig sind, so sind sie doch in manchen Fällen einfacher Art und lassen dann weitere Beziehungen besonders auch hinsichtlich des Gehaltes an löslichen N-Verbindungen erkennen. Wenn die Pufferung im Bereich von p_H 3—6 im wesentlichen auf organische NH_4-Verbindungen und Amidoverbindungen zurückzuführen ist, so kann sie durch die Kultur mancher Pilze auf solchen Säften entweder vollständig zerstört (bei relativer Zuckerarmut der Säfte) oder im Gegenteil noch beträchtlich erhöht werden (bei relativem

[1]) Für die Durchführung der Analysen möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Dr. Ibele wärmstens danken.

Zuckerreichtum der Säfte), während die Pufferung, wenn sie vorwiegend auf organischen Alkali-Salz-Säuregemischen beruht, in größerem Ausmaße erhalten bleibt. Wir können somit mit Hilfe dieser Methode eine weitere Differenzierung der hinsichtlich der Pufferung sich gleichmäßig oder wenig unterschiedlich verhaltenden Preßsäfte vornehmen. Auf diese Weise gelingt es z. B., den ähnlichen Aufbau der Pufferung von Preßsäften der K — und N + Pflanzen aufzuzeigen und dem Aufbau bei N — und K + gegenüberzustellen. Im ersteren Falle ist der Anteil organischer Ammonium- und Amidoverbindungen höher, im zweiten Falle geringer. P — verhält sich insofern vermittelnd, als hier sowohl der Anteil der Kali-Puffergruppe als auch der Anteil der NH_3- und Amido-Puffergruppe ein ziemlich hoher ist. P + zeigt dagegen überhaupt nur geringe Pufferung. Daraus läßt sich entnehmen, daß für die Pufferung im p_H-Bereich von 3,0—6,0 nicht nur der Stickstoffaktor, sondern mindestens ebensosehr der Kalifaktor von ausschlaggebender Bedeutung ist. Anders liegen die Verhältnisse im Bereich von p_H 6—7. Hier spielt die Pufferung durch Phosphate eine wichtige Rolle, und es ist daher nicht zu verwundern, daß in diesem Bereich der p_H-Skala der Phosphorsäurefaktor für die Gruppierung der Ernährungsformen von größerer Bedeutung ist. Da die Einteilung jedoch entsprechend dem N-Faktor verläuft, ist zu erkennen, daß selbst in diesem Falle der P-Faktor für die Pufferung nicht allein ausschlaggebend ist.

In bezug auf die aktuelle Azidität der Preßsäfte wird die Gruppierung gleichfalls im wesentlichen durch den N-Faktor bestimmt. Verhältnismäßig dem Neutralpunkt näherstehende p_H-Werte finden sich vorwiegend bei K — und N +, stärker saure Werte dagegen bei N — und K +; P — und P + verhalten sich nicht immer einheitlich, Ca — schließt sich an die erste, Ca + an die zweite Gruppe an. Durch das Wachstum von Pilzen auf den Preßsäften wird die aktuelle Azidität häufig in alkalischer Richtung verändert, vielfach am stärksten bei der zweiten, d. h. also ursprünglich stärker sauren Gruppe, weniger bei der ersten, schwächer sauren, was im letzteren Falle auf eine stärkere Aufnahme von NH'_4, vielleicht auch auf Exhalation von NH_3 aus der Lösung zurückzuführen sein dürfte.

Sehen wir von den letzteren Angaben ab, die schon mehr zum Säure- und Atmungsstoffwechsel gehören, der bisher noch nicht eingehend genug untersucht worden ist, so ergibt sich insbesondere hinsichtlich des Gehaltes der Preßsäfte an löslichen N-Verbindungen, wie zu erwarten, eine deutliche Abhängigkeit vom Stickstoffaktor. Die Einteilung in zwei Gruppen verläuft der N-Achse des Ernährungsschemas entsprechend und deckt sich somit mit der Einteilung in die beiden Hauptinfektionstypen. In bezug auf den Eiweißgehalt scheinen Einflüsse des K- und P-Faktors, in denen naheliegende Zusammenhänge mit dem Kohlenhydratstoffwechsel und dem Wasserhaushalt zum Ausdruck kommen, deutlicher hervorzutreten, für die Übergänge von K — zu P + (erhöhte Eiweißbildung!) und von P — zu K + (vermehrtes Auftreten von NH_3-N!) sprechen.

Wenn wir nun versuchen, eine Verbindung zwischen den Ergebnissen der physiologischen und parasitologischen Untersuchungen herzustellen, so können wir allgemein sagen, daß wir in ähnlicher Weise wie hinsichtlich des Infektionsergebnisses auch in bezug auf das physiologische Verhalten die einzelnen Ernährungsformen zu bestimmten Gruppen zusammenfassen können, die jeweils einem besonderen Infektionstypus entsprechen, der somit durch eine bestimmte chemische Zusammensetzung oder einen bestimmten

Stoffwechselverlauf charakterisiert ist. Ebenso aber wie die Hauptinfektionstypen keine scharfe Abgrenzung voneinander zeigen, sind auch die entsprechenden physiologischen oder Stoffwechseltypen durch Übergänge miteinander verbunden, die letztendlich in der gegenseitigen Beeinflussung der Nährstoffe begründet sind. Für die Stoffwechseltypen und ihre Übergänge können wir das gleiche Schema zugrunde legen wie für die Infektionstypen. Das Verhalten der einzelnen Ernährungsformen wird auch hier durch die Hauptachsen des Schemas in Gruppen eingeteilt, und es ergibt sich somit bei der Gruppierung ebensowenig eine willkürliche Zusammenstellung der Einzelglieder wie hinsichtlich des Infektionsergebnisses.

Fragen wir nun, wie sich die beiden Hauptinfektionstypen in bezug auf ihren Stoffwechsel charakterisieren lassen, so ist es allerdings vorläufig nur möglich, in groben Umrissen ein Bild zu zeichnen, das in mancherlei Richtung der Bestätigung, Ergänzung und Weiterführung bedarf. In diesem Sinne möge das folgende Assimilationsschema aufgefaßt werden, das den Kohlenstoff-Stickstoffstoffwechsel unter dem Einfluß der Ernährung darzustellen versucht.

N-Überschuß — N-Mangel
CO_2
Wasserüberschuß — Wassermangel — Wasserüberschuß
P- N+ K- V P+ N- K+
reicher — ärmer — reicher
Stärke
Ablagerung — Hydrolyse — Ablagerung
P- N+ K- V P+ N- K+
ärmer — reicher — ärmer
Zucker
Verbrauch — Anhäufung — Verbrauch
P- N+ K- V P+ N- K+
Eiweißärmer — Eiweißreicher — Eiweißärmer
Amidoverbindungen organ. NH_4-Salze. — Zellstoff org. K-Salze.

Schematische Darstellung des Kohlenstoff-Stickstoffstoffwechsels unter dem Einfluß der Ernährung.

In diesem Schema ist ausgegangen von der Gruppeneinteilung nach der Menge des im Nährstoffgemisch zur Verfügung stehenden Stickstoffs. Die Überschußgruppe unterscheidet sich von der Mangelgruppe insbesondere durch die Endprodukte des Stoffwechsels. Auf der einen Seite führt der Kohlenhydrat-Eiweißstoffwechsel vornehmlich zur Bildung N-haltiger Kohlenstoffverbindungen, also zu Eiweißen, Amidoverbindungen und organischen NH_4-Salzen, auf der anderen Seite zur Bildung von Zellstoff und organischen Kaliumsalzen. Allerdings sind auch hier Übergänge zwischen beiden Gruppen festzustellen, die im Zucker-Stärkestoffwechsel mit seiner Abhängigkeit von Phosphorsäure und Kali begründet sind. P + schließt sich hinsichtlich seines größeren Eiweißgehaltes näher an die ausgesprochen eiweißreichen Glieder N + und K — der entgegengesetzten Gruppe an, und zwischen P — und K + bestehen ebenfalls Beziehungen hinsichtlich der relativen Armut

an Eiweißverbindungen. Im allgemeinen kann man jedoch sagen, daß der Stoffwechsel in der N — - Gruppe vorwiegend in aufbauender Richtung verläuft. Diese aufbauende Tendenz tritt sowohl in bezug auf die Eiweißbildung als auch in bezug auf die Bildung von Stärke und Zellstoff mindestens bei jeweils zwei Gliedern der Gruppe besonders deutlich hervor. Der Eiweißstoffwechsel führt besonders bei P + und N — zu verstärktem Aufbau[1]), d. h. die aufgenommenen oder aus der Umwandlung aus NO_3' oder die im abbauenden Stoffwechsel freiwerdenden NH_4-Ionen werden rasch und fast restlos zur Bildung von Eiweiß verwendet; Amidoverbindungen oder organische NH_4-Salze häufen sich nicht an, schon aus dem Grunde nicht, weil der Stoffwechsel infolge N-Mangels zum Aufbau kohlenstoffreicher N-Verbindungen drängt. Nur bei K + ist dieser Druck infolge geringeren Zuckergehaltes und der in Richtung Stärkeaufbau drängenden Tendenz des Kohlenhydrat-Stoffwechsels schwächer. Die Neigung zu erhöhter Stärkebildung teilt K + bis zum gewissen Grade mit N —, während sich P + hier abweichend verhält. Diese Unterschiede hängen mit einem verschieden ausgeprägten Bestreben zur Erhaltung der Turgeszenz der beiden Antipoden K + und P + zusammen. Hinsichtlich der Bildung von Zellstoff finden wir den stärksten Aufbau wiederum bei P + und N — als den an löslichen N-freien Kohlenstoffverbindungen reicheren Gliedern der N-Mangelgruppe. Wir finden somit die Aufbautendenz des Stoffwechsels am stärksten vertreten bei N — selbst, als dem Glied mit dem absolut geringsten N-Gehalt innerhalb der N-Mangelgruppe, in dem sämtliche Endprodukte der Assimilation, sowohl die N-freien als auch die N-haltigen, bei einem mittleren Gehalt an Zucker zur Anhäufung neigen.

In der N-Überschußgruppe besteht dagegen ein vorwiegend träge aufbauender oder sogar abbauender Stoffwechsel, der wiederum bei mindestens zwei Gliedern der Gruppe besonders deutlich hervortritt. Hinsichtlich des Eiweißstoffwechsels kann es zwar bei genügendem Vorhandensein von löslichen Kohlenhydraten zur Bildung großer Eiweißmengen kommen (besonders bei K —, bei fortgeschrittener Entwicklung auch bei N +); daneben bleibt aber meist auch eine Anhäufung von Zwischenprodukten des Eiweißstoffwechsels wie Amidoverbindungen und organischen NH_4-Salzen erhalten. Infolge größerer Neigung zu Turgeszenzschwankungen — dies gilt namentlich auch für Ca — und N + — kann der Eiweißabbau aber auch direkt begünstigt sein [vgl. hierzu M o t h e s (41) 1928]. Ist das Verhältnis von Stickstoff zur Menge der löslichen Kohlenhydrate extrem zugunsten des ersteren verschoben, so erhalten die löslichen N-Verbindungen, insbesondere die organischen NH_4'-Salze, schließlich das Übergewicht (besonders bei P —, im Jugendstadium auch bei N +). Der relative N-Überschuß beeinträchtigt ebenso auch den Aufbau der löslichen N-freien Kohlenstoffverbindungen zu Zellstoff (besonders wiederum bei P — und N +). Bei K — und bei fortgeschrittener Entwicklung auch bei N + finden wir weiterhin auch eine Begünstigung der Stärkehydrolyse; P — verhält sich hier abweichend und schließt sich enger an K + an, mit dem es auch im Gegensatz zu K — und N + ein ebenso ausgeprägtes Turgeszenz-Erhaltungsbestreben verbindet.

Betrachten wir nun diese Zusammenhänge von seiten des angreifenden Parasiten, so müssen wir bei der Infektion der N-Mangelgruppe wiederum in erster Linie beachten, daß der Parasit hier einen in seiner Grundtendenz

[1]) Das soll natürlich nicht heißen, daß damit das allgemeine Wachstum gefördert wäre, da dieses durch die Menge des zur Verfügung stehenden Stickstoffes begrenzt wird.

aufbauenden Stoffwechsel vorfindet. Es werden zwar insbesondere bei P + und N — lösliche N-freie Kohlenstoffverbindungen für seine Ernährung in hinreichender oder sogar reichlicher (P +) Menge zur Verfügung stehen, aber es werden sich alsbald Schwierigkeiten in der N-Versorgung ergeben, da der Stoffwechsel teils in Richtung eines Aufbaues von freiwerdenden NH_4' drängt, teils die Ableitung aller entbehrlichen N-Verbindungen aus älteren Blättern bewirkt. Der Parasit muß daher seine Aggressivität steigern, sowohl um dem aufbauenden Stoffwechsel der Pflanze seine eigene auf Abbau der hochmolekularen Verbindungen gerichtete Tätigkeit entgegenzusetzen, als auch um zur Befriedigung des für seinen Aufbau notwendigen Stickstoffbedarfs alsbald den Protoplasten und den Zellkern angreifen zu können, da er im Zellsaft, besonders bei fortgeschrittener Blattentwicklung, nur ungenügende N-Mengen vorfindet. Es ist leicht verständlich, daß auf diesen Eingriff hin, der die Zelle des ihr zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensfunktionen unbedingt notwendigen Stickstoffquantums beraubt, ein sofortiges Absterben mit seinen Folgeerscheinungen (Nekrobiose) eintritt, die das weitere Wachstum des Parasiten nicht begünstigen (wahrscheinlich erschweren), da Stickstoffmangel trotz Abtötung der Gewebe bei relativem Kohlenstoffüberschuß der wachstumsbegrenzende Faktor auch für den Parasiten bleibt. Bei K + dürften die Verhältnisse etwas anders liegen. Hier müssen wir den relativ geringen Zuckergehalt und die erhöhte Tendenz zum Aufbau von Stärke berücksichtigen, die auf ein erhöhtes Hydratationsbestreben als direkte Folge der verstärkten Kaliaufnahme zurückgehen. Der Parasit kann aber diese Richtung des Stoffwechsels nicht ändern, sondern muß eher selbst, da seine Ernährung gleichfalls im Zeichen der verstärkten Kaliaufnahme steht, ein erhöhtes Hydratationsbestreben aufweisen. Durch Entquellungsvorgänge, die der Parasit wahrscheinlich durch seinen eigenen Stoffwechsel begünstigt oder hervorruft und die teilweise bis zur Koagulation des Plasmas führen, entreißt er der Zelle das für seinen Aufbau notwendige Wasser, verhindert aber damit eine weitergehende Hydrolyse der Stärke und damit eine für seine Ernährung förderliche Erhöhung des Zuckergehaltes. Somit tritt also hier der Faktor Wasser in den Vordergrund, dessen Einflüsse in ähnlicher Weise sich gemäß den physiologischen Beziehungen auch auf N — und P — erstrecken müssen. Außerdem muß auch beachtet werden, daß K-Ionen, ebenso wie Ca-Ionen anscheinend fördernd auf die Bildung organischer Säuren einwirken, wodurch die Wasserstoffionen-Konzentration ansteigt. Da bei geringerem Vorhandensein von sonstigen löslichen Kohlenstoffverbindungen die organischen Säuren von vielen Parasiten als Kohlenstoffquelle mit ausgenutzt werden, kann infolge der freiwerdenden Kationen eine Verschiebung der Wasserstoffionen-Konzentration in alkalischer Richtung auftreten, wie es in der künstlichen Kultur der Parasiten in Preßsäften vielfach zu beobachten ist. Solche Reaktionsänderungen können erhebliche Rückwirkungen auf den Kolloidzustand zur Folge haben und damit zu Störungen führen, die dem Parasiten gegenüber sich als Resistenzfaktoren auswirken. Auch diese Einflüsse müssen sich ebenfalls bis zum gewissen Grade auf die nächststehenden Ernährungsformen erstrecken.

Bei der Infektion der N-Überschußgruppe gerät der Parasit im Gegensatz zur N-Mangelgruppe in einen Stoffwechsel, für den ein mangelhafter Aufbau oder geförderter Abbau der hochmolekularen Verbindungen charakteristisch ist. Die eigene abbauende Tätigkeit des Parasiten geht hier mehr oder weniger konform mit dem Stoffwechselverlauf des Wirtes; er

findet die zu seinem eigenen Aufbau notwendigen organischen Baustoffe in reichlicher Menge und geeigneter Form schon im Zellsaft vor, er braucht somit den Protoplasten weniger und den Kern zunächst überhaupt nicht anzugreifen, kann somit geringere Aggressivität zeigen. Darüber hinaus scheint die Aggressivität des Parasiten besonders durch verstärkten Stickstoffüberschuß, d. h. je mehr der Kohlenstoff-Anteil gegenüber NH_4' in das Minimum gerät, geschädigt zu werden, da damit sein eigener Stoffwechsel unter ein extremes Überwiegen von NH_4' gerät. So wird es verständlich, daß die Aggressivität des Parasiten, namentlich bei P —, im Jugendstadium auch bei N +, nicht selten eine Herabsetzung erfährt, wozu als weiterer wachstumsbegrenzender Faktor der Phosphorsäuremangel an sich noch hinzutritt. Phosphorsäuremangel muß sich aber hinsichtlich der vom Parasiten erzwungenen fermentativen Prozesse ebenso ungünstig auswirken wie im Stoffwechsel der Pflanze selbst. Hinzu kommt ein damit in Verbindung stehendes erhöhtes Hydratationsbestreben (Einfluß von K!), das ungünstig auf die Zuckerbildung wirkt und den Stärkestoffwechsel in aufbauender Richtung beeinflußt. Anders sind die Verhältnisse bei K —, im fortgeschrittenen Stadium auch bei N + gelagert. Hier ist das Stickstoff-Kohlenstoffverhältnis weniger einseitig zugunsten des Stickstoffes verschoben, es finden sich im Zusammenhang mit einer Begünstigung von Entquellungsvorgängen der Plasmakolloide hinreichende oder sogar reichliche (bei K —) Mengen von löslichen Kohlenstoffverbindungen vor; entsprechend vollzieht sich auch die Wasseraufnahme für den Parasiten ohne besondere Störungen. Bei hinreichendem Vorhandensein von Zucker brauchen organische Säuren als Kohlenstoffquelle nicht verwertet zu werden; eine hierdurch bedingte Rückwirkung auf die Reaktion mit ihren Folgen kann unterbleiben, es kann sogar eine verstärkte Bildung von organischen Säuren eingeleitet werden. Somit finden wir eine verständliche Erklärung für den Wechsel von Pseudoimmunität zu ausgesprochener Empfänglichkeit innerhalb der empfänglichen Gruppe in Verschiebungen des Verhältnisses von NH_4' zu den Assimilaten der Kohlensäure und in der Beeinflussung des Wasserhaushaltes.

Wir sind demnach in der Lage, den besonderen Infektionstypus im großen und ganzen aus der Eigenart des Stoffwechsels herzuleiten, und wir dürften hierzu um so genauer imstande sein, je mehr uns die Einzelheiten des Stoffwechselverlaufes in ihrer Abhängigkeit von der Art und Menge der Nährsalze bekannt werden. Daß es sich hierbei um Auswirkungen des physiologischen Ionen-Antagonismus handelt, die nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht zum Ausdruck kommen, dürfte aus den ganzen Ausführungen zur Genüge hervorgehen.

Wenn somit das Verhalten der Parasiten auf den verschieden ernährten Pflanzen letztlich auf verschiedene Stoffwechselvorgänge zurückgeführt wird, so könnte man sich fragen, ob man nicht ähnliche Beziehungen auch mit Hilfe von Kulturversuchen auf toten Substraten, gewissermaßen zur Bestätigung, feststellen könnte. Wenn man demgegenüber auch sagen muß, daß das tote Substrat der regulatorischen Einrichtungen entbehrt, die der lebenden Substanz eigen sind und die erst das Wechselspiel von Wirt und Parasit möglich machen, so soll damit nicht gesagt sein, daß uns die künstliche Kultur nicht interessante Aufschlüsse zu geben vermöchte. Solche sind auf zweierlei Art möglich, durch Kultur des Parasiten auf abgetötetem Pflanzenmaterial oder auf künstlichen Substraten, die so zusammengesetzt sind, daß sie die wesentlichen Unterschiede in der Zusammensetzung ver-

schieden ernährter Pflanzen auf eine möglichst einfache Formel bringen. Die Ergebnisse solcher Versuche seien daher zum Schluß noch kurz behandelt.

Für Kulturversuche auf natürlichen Substraten wurden Preßsäfte gewählt. Sie ergaben nicht selten ein verlangsamtes und geringeres Wachstum bei P — und N + einerseits, ein schwächeres Wachstum auch bei N — und K +, während P + und K — in vielen Fällen auch den höchsten Myzelertrag lieferten. Wir dürfen annehmen, daß bei P — und N + Mangel an Phosphorsäure, Mangel an löslichen N-freien Kohlenhydraten und Ammoniakvergiftung, bei K + und N — Mangel an Stickstoff und vielleicht ungünstige Reaktionsverschiebungen (Alkalisierung) die begrenzenden Faktoren für die Myzelentwicklung darstellen.

In künstlichen Nährböden wurde das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenhydraten im Zusammenhang mit Phosphorsäure und Kali variiert. Als Kohlenstoffquelle dienten Rohrzucker und Zitronensäure, als Stickstoffquellen Ammoniumzitrat und Asparagin. Der Gehalt an Zitronensäure wurde konstant gehalten, in einem Falle mit NH_4', im anderen Falle mit K' neutralisiert. Wurde nun in diesen Nährstoffgemischen einseitig der NH_4'-Anteil gegenüber dem Kohlenstoff-Anteil erhöht, so wurde zwar ein je nach den Ernährungsansprüchen des betreffenden Parasiten wechselndes Gesamtwachstum erzielt, charakteristisch war jedoch fast immer das Ausbleiben oder die lange Verzögerung des Eintritts für den Parasiten besonders charakteristischer Farbstoffbildungen und die schließlich rascher oder langsamer eintretende Ammoniakvergiftung. Wurde umgekehrt der NH_4-Anteil herabgesetzt und zur Neutralisation Kali gegeben, so wurde das Eintreten spezifischer Verfärbungen begünstigt, und die Ammoniakvergiftung unterblieb. Die Verwertung der gebotenen Nährstoffe wurde aber nur möglich, wenn genügend Phosphorsäure im Medium vorhanden war; andernfalls erfolgte nur geringe Myzel-Entwicklung und traten bald Schädigungen ein, die in einigen Fällen gleichfalls das Auftreten von besonderen, die Autolyse einleitenden Verfärbungen hervorriefen. Will man nun in der Verfärbung des Myzels bzw. in der Farbstoffbildung im Medium eine gewisse Parallele zu den Verfärbungs-Erscheinungen erblicken, die bei der Infektion des pflanzlichen Gewebes sichtbar werden, so können wir feststellen, daß intensive Verfärbungen in künstlichen Nährlösungen am ehesten eintreten in einer Zusammensetzung, die derjenigen von Pflanzen der resistenten Gruppe entspricht, wohingegen diese Verfärbungen ausbleiben oder in abwegiger Form (bei P —!) vorkommen bei einer den Pflanzen der empfänglichen Gruppe entsprechenden Zusammensetzung des Nährstoffgemisches. Somit ergeben sich auch aus dem Verhalten der Parasiten auf künstlichen Nährböden Beziehungen zum Infektionstypus auf den verschieden ernährten Pflanzen.

Zusammengefaßt können wir sagen, daß das Verhalten der verschieden ernährten Pflanzen gegenüber Parasiten-Angriffen allgemein im Stoffwechsel begründet ist, der wiederum selbst in ganz bestimmter Weise von der Zusammensetzung des Nährstoffgemisches, d. h. von der Art und Menge der Ionen und ihren besonderen Eigenschaften, abhängig ist. Diese Gesetzmäßigkeiten dürften aber so allgemeiner Natur sein, daß es hierbei nur in geringerem Maße auf die spezifischen Eigenschaften der Parasiten und auf das besondere Verhalten der betreffenden Wirtspflanzen ankommt. Das Problem des antibiontischen Verhältnisses zwischen Wirt und Parasit wird damit zu einem allgemein ernährungsphysiologischen, bei dem erst in zweiter Linie die zur Untersuchung verwendete Pflanzenart bzw. ihre zugehörigen Krank-

heitserreger eine Rolle spielen. Eine Ausdehnung der Untersuchungen auf andere Wirtspflanzen oder andere Parasiten scheint uns daher vorerst in theoretischer Hinsicht mehr in die Breite als in die Tiefe zu führen, womit ihre praktische Bedeutung nicht bestritten werden soll.

Literatur.

1. Ahrns, W., Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit des gegenseitigen Mengenverhältnisses der Kohlenhydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. (Bot. Archiv. Bd. 5. 1924.) — 2. Anderson, P. J., Swanback, T. R., and Streeet, O. E., Potash requirements of the tobacco crop. (Connecticut Agr. Exp. St. Bull. 334. 1932. p. 137—217.) — 3. Boas, F., Die Pflanze als kolloides System. (Naturw. u. Landwirtschaft. Heft 14. 1928.) — 4. Biedermann, zit. nach Benecke-Jost, Pflanzenphysiologie. Bd. 1. 1924. S. 263. — 5. Böning, K., Die Mosaikkrankheit der Rübe. (Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenkrankh. Heft 3. 1927. S. 81—128.) — 6. Böning, K., Beiträge zum Studium pflanzlicher Viruskrankheiten. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 1. 1928. S. 198—230.) — 7. Böning, K., Beiträge zur Kenntnis des parasitischen Verhaltens von Pseudomonas tabaci, des Wildfeuererregers am Tabak. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 2. 1930. S. 645—755.) — 8. Böning, K., Zur Ätiologie der Streifen- und Kräuselkrankheit des Tabaks. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 3. 1931. S. 103—141.) — 9. Böning, K., Zur Biologie und Bekämpfung der Sklerotienkrankheit des Tabaks (Sclerotinia sclerotiorum) [Lib.] Massee. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 6. 1933. S. 113—175.) — 10. Böning, K. und Böning-Seubert, E., W.J.K. und Pufferung im Preßsaft von Tabakblättern in ihrer Abhängigkeit von der Ernährung und Entwicklung der Pflanze. (Biochem. Ztschr. Bd. 247. 1932. S. 35—67.) — 11. Briggs, G. E., The characteristics of subnormal photosynthetic activity resulting from deficiency of nutrient salts. (Proc. Roy. Soc. of London S.B. Vol. 94. 1923.) — 12. Bruns, A., Untersuchungen zur Auffindung der Ursache der Amylum-Verminderungs-Beschleunigung im welkenden Laubblatt. (Bot. Archiv. Bd. 11. 1925. S. 40—103.) — 13. Burell, R. C., Effect of certain deficiences on nitrogen metabolism of plants. (Bot. Gazette. Vol. 82. 1926.) — 14. Dikussar, J., Die Wirkung des Ammonsulfates und des Salpeters auf die Entwicklung von Zuckerrübe und Mais in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung der Nährlösung. (Landw. Jahrb. Bd. 72. 1930. S. 79—104.) — 15. Doby, G. und Hibbard, R. P., Verhalten, insbesondere Ionenaktivierung von Pflanzenenzymen in Abhängigkeit von der Ernährung. II. Über die Saccharase kalihungriger Zuckerrüben. (Biochem. Ztschr. Bd. 178. 1926.) — 16. Ehrenberg, P., Das Kalk-Kali-Gesetz. (Landw. Jahrb. Bd. 54. 1920. S. 1—159.) — 17. Engel, H., Beiträge zur Kenntnis des Stickstoffumsatzes grüner Pflanzen. (Planta. Bd. 7. 1929. S. 133—164.) 18. Euler, zit. nach Benecke-Jost, Pflanzenphysiologie. Bd. 1. 1924. S. 356. 19. Fischer, E. und Gäumann, E., Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena (G. Fischer) 1929. — 20. Garner, W. W., McMurtrey, J. E., Bowling, J. D., and Moss, E. G., Rôle of chlorine in nutrition and growth of the tobacco plant and its effect on the quality of the cured leaf. (Journ. Agr. Res. Vol. 40. 1930. p. 627—648.) — 21. Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 535—617.) — 22. Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 5. 1933. S. 323—342.) — 23. Gaßner, G. und Göze, Untersuchungen über die CO_2-Assimilation kalimangelnder Pflanzen. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 50a. 1932.) — 24. Hansteen-Cranner, B., Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand lebender Zellen. (Pringsh. Jahrb. Bd. 53. 1914.) — 25. Hartt, C. E., Potassium deficiency in sugar cane. (Bot. Gazette. Bd. 88. 1929.) — 26. Hoagland, D. R., Die Aufnahme von Jonen durch die Pflanze. (Soil Science. T. 16. 1923. p. 225—246.) — 27. Iljin, W. S., Der Einfluß des Welkens auf den Ab- und Aufbau der Stärke in der Pflanze. (Planta. Bd. 10. 1930.) — 28. Jannsen, G., and Bartholomew, R. P., The translocation of potassium in Tomato plants and its relation to their carbohydrate and nitrogen distribution. (Journ. Agr. Res. Vol. 38. 1929.) — 29. Kaho, H., Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma. (Acta et Commentationes Univ. Dorpat. A. 5. 1924.) — 30. Kaho, H., Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze. (Ergebnisse d. Biologie. Bd. 1. 1926.) — 31. Kisser, J., Untersuchungen über den Einfluß

der Nährsalze auf die Wasserabgabe, Wasseraufnahme, relative Sproß- und Wurzelmasse und die Blattstruktur. I. u. II. (Planta. Bd. 3. 1927.) — 32. Lundegardh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena (G. Fischer) 1932. — 33. Maiwald, K., Wirkung hoher Kali- und Chlorgaben auf Wachstum, Blattgrüngehalt und Ertrag von Kartoffeln. (Ztschr. f. Pflanzenernährung, Düngung u. Bodenkunde. A. Bd. 9. 1927. S. 57—98.) — 34. Mevius, W., Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der H.J.K. (Planta. Bd. 6. 1928.) — 35. Mevius, W. und Dikussar, J., Nitrite als N-Quellen für höhere Pflanzen. (Pringsh. Jahrb. Bd. 73. 1930.) — 36. Mevius, W. und Engel, H., Die Wirkung der Ammoniumsalze usw. (Planta. Bd. 6. 1928.) — 37. Mitscherlich, E. A. und Simmermacher, W., Einige Untersuchungen über den Einfluß des Ammonsulfates auf die Phosphatdüngung bei Haferkulturen. (Landw. Versuchsstat. Bd. 79. 1913. S. 71—96.) — 38. Mitscherlich, E. A., Pflanzenphysiologische Vorarbeiten zur chemischen Düngemittelanalyse. (Landw. Jahrb. Bd. 49. 1916. S. 335—416.) — 39. Molisch, H., Über den Einfluß der Transpiration auf das Verschwinden der Stärke in den Blättern. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 39. 1921.) — 40. Mothes, K., Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. (Planta. Bd. 1. 1926; ibid. Bd. 12. 1931.) — 41. Mothes, K., Die Wirkung des Wassermangels auf den Eiweißumsatz in höheren Pflanzen. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 46. 1928.) — 42. Mothes, K., Ernährung, Struktur und Transpiration. (Biolog. Zentralbl. Bd. 52. 1932.) — 43. Neger, F. W., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 29. 1919.) — 44. Nightingale, G. T., Schermerhorn, L. G., Robbins, W. R., Some effect of potassium deficiency of the histological structure and nitrogenous and carbohydrate constituents of plants. (New Jersey Agr. Exp. St. Bull. 499. 1930.) — 45. Pantanelli, E., Über Ionenaufnahme. (Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 56. 1915. S. 689—733; Protoplasma. Bd. 7. 1929.) — 46. Pfeiffer, Th., Simmermacher, W. und Spangenberg, W., Die Löslichkeit verschiedener Phosphate und deren Ausnützung durch Hafer und Buchweizen. (Landw. Vers.Stat. 1916. S. 211.) 47. Pirschle, K., Zur physiologischen Wirkung homologer Ionenreihen. (Pringsh. Jahrb. Bd. 72. 1930; Bd. 76. 1932.) — 48. Pirschle, K. und Mengdehl, H., Ionenaufnahme aus Salzlösungen durch die höhere Pflanze. (Pringh. Jahrb. Bd. 74. 1931.) — 49. Prianischnikow. D. N., Ammoniak, Nitrate und Nitrite als N-Quellen für höhere Pflanzen. (Ergebn. d. Biologie. Bd. 1. 1926.) — 50. Rave, L., Untersuchungen an 3 Tabaksorten im Lichte bestimmter Standorts- und Klimaverhältnisse. (Wiss. Archiv f. Landwirtsch. A. Bd. 2. S. 172.) — 51. Redfern, G. M., Über Ionenaufnahme durch die Wurzeln lebender Pflanzen. (Annals of Bot. Vol. 36. 1922. p. 167—174.) — 52. Reed, H. S., The effect of certain chemical agents upon the transpiration and growth of wheat seedlings. (Bot. Gazette. Vol. 49. 1910.) — 53. Remy, Th. und Liesegang, H., Untersuchungen über die Rückwirkungen der Kaliversorgung auf Chlorophyllgehalt, Assimilationsleistung, Wachstum und Ertrag der Kartoffeln. (Landw. Jahrb. Bd. 64. 1926. S. 213—240.) — 54. Rippel, A., Quantitative Untersuchungen über Kationenaustausch in der Pflanze. (Jahrb. wiss. Bot. Bd. 65. 1926. S. 819—846.) — 55. Schaffnit, E. und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. (I. Forsch. a. d. Gebiet d. Pflanzenkrankh. H. 3. 1927. S. 1—79; II. Phytopathol. Ztschr. Bd. 1. 1930. S. 535.) — 56. Schaffnit, E. und Lüdke, M., Über den Stoffwechsel landwirtschaftlicher Kulturpflanzen bei verschiedenen Temperaturen und wechselnder Ernährung. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 4. 1932.) — 57. Schmalfuß, K., Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 207—249.) — 58. Schröder, H. und Horn, T., Das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlenhydrate im Laubblatt in seiner Abhängigkeit vom Wassergehalt. (Biochem. Ztschr. Bd. 130. 1922. S. 165—198.) — 59. Volk, A., Einflüsse des Bodens, der Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 3. 1931. S. 1—88.) — 60. Volk, A. und Tiemann, E., Zur Anatomie verschieden ernährter Pflanzen. (Forschungen a. d. Gebiet d. Pflanzenkrankh. H. 3. 1927.) — 61. Walter, H., Die Hydratur der Pflanze. Jena (G. Fischer) 1931. — 62. Weigert, J. und Stiehr, G., Beziehungen zwischen der Düngung und der chemischen Zusammensetzung der Kartoffelknollen. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Bd. 10. 1933. S. 277—292.) — 63. Zimmermann, A., Sammelreferate über die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze. III. Sclerotinia, Monilia, Botrytis. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 69 u. 70. 1927.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Frage der Antikörperbildung im pflanzlichen Organismus I.

[Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule, Bonn-Poppelsdorf.]

Von **A. F. Wilhelm.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Einleitung.

Ein näheres Studium der Wechselbeziehungen zwischen den höheren Pflanzen und ihren Parasiten, Bakterien und Pilzen, zeigt mit großer Deutlichkeit, daß das parasitische Verhältnis weder in seinem Zustandekommen noch im Verlauf seiner Entwicklung von der parasitischen Befähigung, der Aggressivität, des Krankheitserregers allein abhängig ist, sondern daß es durch die jeweilige Reaktionsweise des Wirtes weitgehend verändert wird. Als eines der möglichen Mittel, deren sich die Pflanze zur aktiven Abwehr parasitärer Eingriffe bedient, war bei dem weitgehend ähnlichen Stoffwechselgeschehen von tierischer und pflanzlicher Zelle die Bildung von Antikörpern in Erwägung zu ziehen. Unter diesem Gesichtspunkt sind schon eine Reihe von Arbeiten entstanden mit dem Ziele, den Nachweis einer Antikörperbildung und damit des Vorkommens einer aktiven Immunität sensu strictu auch für die Pflanze zu erbringen.

Dabei verstehen wir unter dem Begriff der aktiven Immunität eine solche, bei der ein Organismus nach Überstehen einer Krankheit durch Betätigung und vor allem durch Steigerung seiner Abwehrkräfte gegen die krankmachenden Agenzien geschützt ist und seine Körpersäfte selbst ein verändertes Reaktionsvermögen gegenüber diesen Agenzien erkennen lassen. Die aktive Immunität ist spezifisch, d. h. nur gegen dieselbe krankmachende Ursache gerichtet und unterscheidet sich von der sog. passiven Immunität dadurch, daß bei deren Erlangung der Organismus sich passiv verhält und seine Widerstandsfähigkeit der Einverleibung schützender Substanzen verdankt, die in einem anderen Individuum durch aktive Immunisierung entstanden waren. Alle anderen Fälle von Widerstandsfähigkeit sind unter den Begriff der natürlichen Resistenz[1]) einzureihen.

Die Resultate der Versuche, die zum Nachweis einer aktiven Immunität im Pflanzenreich unternommen wurden, sind bei kritischer Betrachtung nur wenig befriedigend[2]); denn einmal fehlt bei derartigen Untersuchungen

[1]) Nach obiger Definition sind auch die von Fischer und Gäumann (Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929) unter dem Kapitel „Aktive Faktoren der Empfänglichkeit und Widerstandsfähigkeit" aufgeführten Beispiele der Gruppe morphologisch-anatomischer und zum Teil auch chemisch-physiologischer Faktoren zu den Fällen natürlicher Resistenz zu rechnen. Gegenüber den ebenda erwähnten Versuchen Noël Bernards hat Magrou festgestellt, daß aus Knollenstücken von *Loroglossum hircinum* auch in Abwesenheit der Mykorrhizenpilze fungizide Stoffe diffundieren, letztere also in der Knolle schon vor der Impfung vorhanden sind. J. Magrou, L'immunité humerale chez les plantes. Rev. d. Pathol. Végétale et d'Entomol. Agric. T. 11. 1924. p. 189 ff.)

[2]) Der gleichen Ansicht sind auch Carbone und Arnaudi, die eine kritische Besprechung früherer Arbeiten und eigene Beiträge zum Problem der aktiven Immunität bei Pflanzen vor kurzem veröffentlicht haben. (D. Carbone e C. Arnaudi, L'Immunità nelle piante. Milano 1930.)

der Nachweis der Spezifität und dann sind die ebenfalls erhöhte Widerstandsfähigkeit verursachenden, möglicherweise eingetretenen Veränderungen anatomisch-morphologischer und besonders chemisch-physiologischer Faktoren, die aber als Ausdruck natürlicher Resistenz gewertet werden müssen, nicht genügend berücksichtigt. Auch unsere eigenen, schon im Jahre 1930 in diesem Zusammenhang begonnenen Untersuchungen, über die demnächst unter näherem Eingehen auf die einschlägige Literatur berichtet wird, haben ergeben, daß die Pflanze durch entsprechende Vorbehandlung im Sinne einer aktiven Immunisierung eine erhöhte Widerstandsfähigkeit erlangen kann; es ist jedoch bisher nicht gelungen, in vitro erkennbare Antikörper in Form von Präzipitinen, Agglutininen oder Antitoxinen als Ursache der erhöhten Widerstandsfähigkeit nachzuweisen.

Hält man daran fest, daß der exakte Nachweis für die Existenz von pflanzlichen Antikörpern letzten Endes nur eine Frage der Methodik und der glücklichen Wahl der Objekte darstellt, dann schien das Problem eine endgültige und einwandfreie Klärung durch die Arbeit Kostoffs[1]) erfahren zu haben, die uns im Jahre 1930 zugänglich geworden war.

Da den Versuchen Kostoffs grundsätzlich das gleiche Problem zugrunde lag, das wir selbst zu unserem Arbeitsgebiet gewählt hatten, hielten wir es in Anbetracht der theoretischen Bedeutung und der evtl. möglichen praktischen Ausbeute[2]) der gewonnenen Erkenntnisse für notwendig, die Ergebnisse dieses Autors nachzuprüfen und womöglich zu erweitern, besonders nachdem von den unter gleichen Bedingungen geprüften 27 Versuchspaaren nur 5 positive Reaktionen ergeben haben. Es dürfte zweckmäßig sein, vor einem Bericht über die Kostoffschen Versuche eine kurze Erläuterung der im folgenden immer wiederkehrenden serologischen Grundbegriffe zu geben.

Zur Kenntnis der verwendeten serologischen Begriffe.

Nach Wells[3]) sind Antigene Stoffe, welche, in das Gewebe bzw. in die zirkulierenden Säfte eines geeigneten Tieres gebracht, das Auftreten von Substanzen (Antikörpern) verursachen, die sich spezifisch mit diesem Antigen verbinden können. Nicht alle fremden Substanzen, giftige oder ungiftige, haben die Fähigkeit, die Bildung antagonistischer Stoffe anzuregen. Z. B. sind Alkohole, Alkaloide, Mineralgifte, Zuckerarten, keine Antigene. Antigene scheinen immer große kolloide Moleküle zu sein. Im allgemeinen sind alle löslichen Proteine antigen.

Antikörper sind demnach Stoffe, die im Blut immunisierter Tiere erscheinen und die Eigenschaft zeigen, mit dem zur Immunisierung verwendeten Antigen spezifisch zu reagieren.

Das Blut der immunisierten Tiere liefert das sog. Antiserum. Die wichtigsten, im Blutserum auftretenden Antikörper sind im Falle eines Toxins als Antigen das sog. Antitoxin, das zur Neutralisation des Toxins führt,

[1]) D. Kostoff, Acquired immunity in plants. (Genetics. Vol. 14. 1929. p. 37—77.)

[2]) Z. B. zieht R. Seeliger (Angewandte Botanik. Bd. 12. 1930. S. 345) im Vertrauen auf die Richtigkeit der Kostoffschen Versuche Antikörperbildung als mögliche Ursache schlechter Sortenverträglichkeit bei Pfropfreben in Betracht.

[3]) H. G. Wells, Die chemischen Anschauungen über Immunitätsvorgänge. Jena 1927.

im Falle unlöslicher Substanzen, z. B. Bakterien als Antigen das Agglutinin, unter dessen Einfluß die Partikelchen sich zusammenballen und im Falle eines löslichen Stoffes als Antigen das Präzipitin, das zur Bildung eines Niederschlages führt. Reaktionen der zuletzt genannten Art werden wir im folgenden zu besprechen haben.

Die Ausführung der Präzipitinreaktion, die bekanntlich durch die Königsberger Schule[1]) in der botanischen Verwandtschaftsforschung weitgehende Anwendung gefunden hat, geschieht in der Weise, daß entweder die Lösung eines Antigens und das Antiserum in bestimmten Verdünnungen und Mengenverhältnissen in Reagenzgläsern gemischt oder nach Uhlenhut[2]) in engen Glasröhrchen (Kapillaren) überschichtet werden, wobei im ersten Fall ein Niederschlag, im zweiten Fall an der Grenzzone der beiden Flüssigkeiten ein weißer Ring (Präzipitinring) als Erfolg der Reaktion entsteht. Niederschlags- bzw. Ringbildung beim Zusammenbringen von Antigen und Antiserum ist jedoch nicht in jedem Fall auf den Präzipitingehalt des Antiserums zurückzuführen, sondern kann auch ohne vorhergegangene Immunisierung im sog. Normalserum auftreten. Die Ausschaltung derartiger unerwünschter Reaktionen bzw. die Unterscheidung dieser sog. Normalpräzipitine von den echten Antikörpern verlangt die Anwendung besonderer Vorsichtsmaßregeln und Kontrollen, auf die bei der Besprechung der einzelnen Versuche näher einzugehen ist.

Die Versuche Kostoffs.

Bei den höheren Pflanzen sind es vor allem zwei Momente, die den Nachweis von Antikörpern erschweren. Erstens liefert die Pflanze kein dem Tierserum ähnliches Substrat, indem eine Anreicherung der Antikörper stattfindet. Palladin[3]) nennt zwar den Zellsaft das Blut der Pflanzen; es ist aber bei Vielzellern kaum möglich, den Zellsaft unverändert und frei von Stoffen des Plasmas zu gewinnen. Diese Schwierigkeit ließe sich wohl beim Arbeiten mit großzelligen Algen umgehen, die überhaupt zu Untersuchungen dieser Art geeignete Objekte abgeben dürften.

Zweitens gelingt es bei der gewöhnlich geübten Methode der Injektion nicht, eine zur erfolgreichen Immunisierung notwendige Menge Antigen und zwar in gewissen Zeitabständen wiederholt zu applizieren, ohne die umliegenden Zellen mehr oder weniger zu schädigen. Letzteren Punkt macht Kostoff für die bisher negativen Resultate verantwortlich und umgeht diese Schwierigkeit dadurch, daß er Pfropfverbindungen von gattungs- und artverschiedenen Solanaceen herstellt. Er macht dabei die Annahme, daß bei der bald eintretenden Stoffwanderung von Reis zur Unterlage und umgekehrt in jeden Partner fremde Stoffe auf rein natürlichem Wege und in genügender Menge gelangen, um Antikörperbildung anzuregen.

---

[1]) C. Mez, Anleitung zu serodiagnostischen Untersuchungen für Botaniker. (Botan. Archiv. 1922. 1.) — C. Mez, Serumreaktionen zur Feststellung von Verwandtschaftsverhältnissen im Pflanzenreich. (Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden. 1924. 11.) — C. Mez und H. Ziegenspeck, Zur Theorie der Serodiagnostik. (Botan. Archiv. 1926. 12.) — H. Ziegenspeck, Kritisches und Strittiges. (Botan. Archiv. 1926. 16, und zahlreiche andere, zumeist im Botan. Archiv veröffentlichte Arbeiten.)

[2]) P. Uhlenhut und Weidanz, Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Jena 1909.

[3]) W. Palladin, Das Blut der Pflanzen. (Berichte d. Dtsch. Botan. Ges. Bd. 26a. 1908. S. 125.)

Die zur Ausführung der Präzipitinreaktion notwendigen Lösungen, die einmal das Antigen, zum anderen die Antikörper enthalten sollten, hat Kostoff auf die gleiche Weise hergestellt. Dazu macht er folgende Angaben (S. 43): In Verfolg der Mezschen Vorschriften wurde das Material für beide Extraktkomponenten: a) mit weinsäurehaltigem Alkohol-Äther, b) mit Äther, c) mit Chloroform und Chloroform-Alkohol behandelt. Zur Extraktgewinnung wurden gleiche Mengen vorbehandeltes Gewebe und destilliertes Wasser verwendet. Reis und Unterlage wurden vor der Aufarbeitung getrennt und auf 48 Std. in destilliertes Wasser gestellt, um die höchste Konzentration der gebildeten Antikörper zu erfassen, da nach Abb. 4 S. 55 bei unmittelbarer Verarbeitung des Reises die Antikörper durch die von der Unterlage kommenden Antigene neutralisiert werden können oder bei länger dauernder Aufbewahrung des Reises für sich infolge Mangel an antigenen Stoffen auch die Antikörper eine rasche Verminderung erfahren sollen.

Kostoff führt in seinen Tabellen ausschließlich Werte auf, die nach der Uhlenhutschen Ringmethode gewonnen worden waren und sagt S. 57, daß Parallelversuche, bei denen die Mezsche Präzipitinmethode zur Anwendung kam, in ihrem Ergebnis nicht davon abwichen.

Als Maß zur Beurteilung der eingetretenen Antikörperbildung hat Kostoff die Größe und Dichte des Präzipitinringes zugrunde gelegt, eine Methode, die jedoch nicht unbedenklich ist, weil sie leicht zur Selbsttäuschung Anlaß geben kann und so nicht genügend objektiv erscheint.

Mit der oben kurz umrissenen Methode hat Kostoff bei den Pfropfpaaren: Nicotiana Rusbyi auf Nicotiana rustica, Solanum tuberosum auf Nicotiana rustica, Lycium barbarum auf Solanum lycopersici, Nicotiana Sandarae auf Datura ferox und Nicotiana glauca auf Capsicum pyramidale Antikörperbildung nachweisen können. Schwache Präzipitinbildung fand er ferner bei 7 weiteren Paaren. 11 Pfropfverbindungen ließen keine Steigerung und 4 weitere eine Abnahme des Präzipitationsvermögens ihrer Säfte feststellen.

I. Teil.

Eigene experimentelle Untersuchungen zur Nachprüfung und Erweiterung der Ergebnisse Kostoffs.

Ergibt sich beim Verfolg eines Problems die Notwendigkeit, Versuche anderer Autoren zu wiederholen, so ist in erster Linie zu fordern, daß zur Erzielung gleichlautender Resultate an den nämlichen Objekten und mit der gleichen Methode experimentiert wird, eine Bedingung, die besonders dann erfüllt werden muß, wenn es sich, wie bei Kostoffs Reaktionen, um rein empirische Befunde handelt und die Träger dieser Reaktionen ihrem Wesen nach unbekannt sind. Über die Natur der Antigen-Antikörperreaktionen ist aber selbst in der medizinischen Immunitätswissenschaft nicht allzuviel bekannt[1]), und Mez[2]) sieht sich zur Aussage veranlaßt, „daß wir es bei der ganzen Serodiagnostik mit blutiger Empirie zu tun haben". Zwar sind die Bedingungen, unter denen Antigen-Antikörperreaktionen sich

[1]) Vgl. H. Sachs und H. O. Behrens, Zur Frage des Wesens der Antikörperreaktionen. (Biochem. Ztschr. Bd. 250. 1932. S. 352.)

[2]) C. Mez, a. a. O., Botan. Archiv. Bd. 1. 1922. S. 179.

abspielen, weitgehend erforscht, und es kann als sicher angenommen werden, daß bei der botanischen serologischen Verwandtschaftsforschung Eiweißstoffe diese Reaktionen ergeben. Bei den hier zur Frage stehenden Reaktionen handelt es sich aber grundsätzlich um Neues insofern, als erstens über die möglicherweise als Antigene fungierenden Stoffe nichts bekannt ist und zweitens zur Antikörperbildung im Gegensatz zu der bis jetzt geübten serologischen Arbeitsweise nicht ein tierischer Organismus, sondern die Pflanze benutzt wird.

Mit einer Nachprüfung der Resultate Kostoffs hat gleichzeitig mit uns Silberschmidt begonnen. In seiner ersten Veröffentlichung[1]) wird vor allem die Kostoffsche Methode einer eingehenden Kritik unterzogen. Zur Frage der Antikörperbildung selbst werden nur zwei Versuche angeführt, die jedoch an anderen Pflanzen angestellt sind, als sie Kostoff verwendet hat und so über die Gültigkeit der experimentellen Befunde Kostoffs keine Aussage gestatten. Auch dürften die daselbst aufgestellten methodischen Forderungen nur dann Berechtigung haben, wenn der Beweis erbracht wäre, daß die von Kostoff beschriebenen Reaktionen wesensgleich mit den bisher bekannten serologischen Reaktionen sind. Kostoff selbst sagt im Anschluß an seine Untersuchungen über das Verhalten der pflanzlichen Antigene und Antikörper gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen, S. 66: "About the nature of the antigens and antibodies in plants one can say very little." Allerdings muß darauf hingewiesen werden, daß die Methode, die Mez zur Darstellung der Antigene angibt und die auch Kostoff benutzt hat, darauf hinzielt, Eiweißstoffe möglichst rein zu gewinnen, so daß die Annahme naheliegend erscheint, die Antigene und Antikörper der Kostoffschen Versuche müßten ebenfalls Eiweißstoffe sein. Nach Mez und Ziegenspeck hat die Zugabe von weinsäurehaltigem Alkohol den Zweck, die für die Versuchstiere giftigen Alkaloide zu entfernen und vor allem klarere Extrakte zu gewinnen. Durch das folgende Ausäthern und die Chloroformbehandlung sollen außerdem die die Reaktion störenden Lipoide und Fette entfernt werden. Die von Silberschmidt in seiner ersten Arbeit gewonnenen Resultate seien hier, soweit sie für uns von Wichtigkeit sind, mit den Worten des Verf.s wiedergegeben: „Die wenigen von uns zum Problem der Antikörperbildung bei Pflanzen mitgeteilten Versuchsergebnisse lassen die von Kostoff im bejahenden Sinne beantwortete Frage, ob überhaupt Antikörper in Pflanzen gebildet werden können, offen, sprechen aber, wie Kostoffs Versuche selbst gegen die Annahme einer dem Antikörpervorkommen im Tierreich entsprechenden Verbreitung." In der Fortsetzung[2]) seiner auf erweiterter Basis und nach verschiedenen Richtungen ausgedehnten Untersuchungen kommt Silberschmidt weiterhin zu dem Ergebnis, daß „wenigstens für die hier untersuchten Pfropfkombinationen die Theorie einer allmählichen Immunisierung des Reises durch die Unterlage abgelehnt werden müsse". Zu den in seiner zweiten Mitteilung veröffentlichten Präzipitinversuchen ist zu erwähnen, daß Silberschmidt weder die in seiner ersten Arbeit aufgestellten methodischen Forderungen eingehalten, noch nach den Angaben Kostoffs verfahren hat, sondern daß die mitgeteilten Präzipitinversuche fast ausschließlich mit reinen Preßsäften angestellt sind. Zu einem direkten Vergleich

[1]) K. Silberschmidt. Studien zum Nachweis von Antikörpern in Pflanzen I. (Planta. Bd. 13. 1931. S. 114—168.)

[2]) K. Silberschmidt, Studien zum Nachweis von Antikörpern II. (Planta. Bd. 17. 1932. S. 493—589.)

mit den Kostoffschen Resultaten können demnach auch die in der zweiten Veröffentlichung Silberschmidts aufgezeichneten Präzipitinversuche nicht herangezogen werden. — Es braucht wohl nicht besonders betont zu werden, daß mit diesen Feststellungen der Wert und die Bedeutung der Silberschmidtschen Präzipitationsversuche nicht berührt wird; im Gegenteil haben sie zusammen mit anderen ausgedehnten Versuchen einen wertvollen Beitrag zur Analyse der an den Fällungsreaktionen pflanzlicher Extrakte beteiligten Faktoren geliefert. Gelegentlich der Besprechung unserer eigenen Versuche werden auch die Ergebnisse Silberschmidts berücksichtigt werden.

1. Versuche, zu denen das Pflanzenmaterial nach der Mezschen Vorschrift extrahiert wurde.

a) Die Methode und das Versuchsmaterial.

Unsere Arbeitsweise zur Darstellung der Antigene und Antikörper war demnach den Angaben Kostoffs entsprechend folgende:

Reis und Unterlage wurden getrennt und auf 48 Std. in destilliertes Wasser gestellt. Eine abgewogene Menge Blätter und die dazu gehörigen Stengelteile wurden nach Mezscher Vorschrift vorextrahiert. Zu diesem Zwecke wurden die Pflanzenteile in einem Porzellanmörser unter Zusatz von 96 proz. Alkohol, der 0,5% Weinsäure enthielt, fein zerrieben, unter Nachspülen mit demselben Lösungsmittel in einen Erlenmeyerkolben gegeben und nach öfterem Umschütteln ½ Std. zum Absitzen stehen gelassen. Die überstehende Chlorophyllösung, die außerdem Alkaloide, Kohlenhydrate, Lipoide u. a. enthielt, wurde vorsichtig abgegossen und der Rückstand neuerdings je nach dem vorhandenen Material 2—3 mal mit neuem weinsäurehaltigen Alkohol ausgeschüttelt, bis das Lösungsmittel ungefärbt blieb. Zu 20 g frischer Pflanzensubstanz wurden durchschnittlich 250 g Alkohol benötigt. Darauf folgte zweimaliges Ausschütteln mit Äther und derselbe Vorgang mit Chloroform. Nun wurde gewöhnlich über Nacht in weiten Petrischalen im Trockenschrank bei Zimmertemperatur trocknen gelassen. Die resultierende pulverige Masse war bei Tomate, Nicotiana rustica, Nicotiana tabacum, Nicotiana Langsdorffii fast rein weiß, bei Kartoffel und Nicotiana Sandarae schwach braun gefärbt. Der bräunliche Farbton vertiefte sich beim Stehen an der Luft etwas.

Die eigentliche Extraktion der Antigene und Antikörper geschah in Erlenmeyerkölbchen unter öfterem Umschütteln während 2 Std. und zwar kam auf einen Teil Frischgewicht ein Teil destilliertes Wasser; dann wurde durch ausgekochte Gaze abgepreßt und filtriert. Die Filtration ging rasch von statten. Die so erhaltenen Lösungen waren stets klar, bei Tomate, Nicotiana rustica, Nicotiana glauca und Langsdorffii fast ungefärbt, sonst schwach gelb bis hellbraun gefärbt.

Nötigenfalls geschah die Aufbewahrung der fertigen Lösungen im Eisschrank ohne konservierenden Zusatz und nie länger als 2 Tage, da nach dieser Zeit der gelbliche Farbton nach braun sich vertieft hatte und zum Teil auch Niederschläge entstanden.

Zur Ausführung der Präzipitinreaktion nach Uhlenhut wurden 5 mm weite, 3,5 cm lange Röhrchen benützt und die zu prüfenden Lösungen mittels fertig bezogener Glaskapillaren eingeführt.

Zur sprachlichen Vereinfachung seien die Lösungen, die Antigene enthalten sollen, als „Antigen", die, welche Antikörper enthalten sollen, als „Antiserum" bezeichnet.

Das benötigte Pflanzenmaterial[1]) wurde im Gewächshaus herangezogen. Zu den Versuchen wurden nur einwandfreie Exemplare verwendet. Die untengenannten Pfropfungen sind in der Zeit vom 3. 6. bis 2. 7. 1931 ausgeführt worden. Sie gelangen in der feucht gehaltenen Kabine bis zu 100%.

Wenn Kostoff S. 66 sagt: „Zur Erzielung zufriedenstellenden Wachstums des Reises bei Gattungspfropfungen mußte Reis und Unterlage annähernd gleiche Masse besitzen; denn, falls das Reis überwiegt, tötet es die Unterlage oder schädigt sie so, daß kein Wachstum mehr stattfindet. Dieser Fall kam sehr häufig vor, wenn die Unterlage prädominierte. Bei Pfropfungen zwischen Arten wurde diese Erscheinung jedoch nicht sehr häufig beobachtet." — dann dürfte dieser Beobachtung keine allgemeine Gültigkeit zukommen. Sie widerspricht auch jeder gärtnerischen Praxis und den Erfahrungen, die am hiesigen Institut bei vielen Hunderten von Solanazeenpfropfungen innerhalb Gattungen und Arten gemacht wurden. Man wird zu erfolgreichen Pfropfungen stets das Reis entsprechend zuschneiden, ohne Rücksicht auf die Größe der Unterlage, so daß auch bei Pfropfungen zwischen Gattungen das Reis oft den zehnten und noch viel geringeren Teil der oberirdischen Pflanzenmasse der Unterlage ausmacht.

An Pfropfungen standen uns folgende zur Verfügung:

1.	Nic.	rustica	auf	Sol.	tuberosum,
	„	„	„	„	lycopersici,
	„	„	„	Nic.	suaveolens,
	„	„	„	„	lanceolata,
	„	„	„	„	Langsdorffii,
	„	„	„	„	glauca,
	„	„	„	„	Sandarae,
	„	„	„	„	alata.
2.	Nic.	tabacum	auf	Sol.	tuberosum,
	„	„	„	„	lycopersici,
	„	„	„	Nic.	rustica,
	„	„	„	„	glauca,
	„	„	„	„	suaveolens,
	„	„	„	„	Sandarae.
3.	Nic.	glauca	auf	Nic.	rustica,
	„	„	„	„	tabacum,
	„	„	„	„	Sandarae,
	„	„	„	Sol.	lycopersici,
	„	„	„	„	tuberosum.
4.	Nic.	Langsdorffii	auf	Sol.	lycopersici,
	„	„	„	„	tuberosum,
	„	„		Nic.	rustica,
	„	„	„	„	tabacum.
5.	Sol.	tuberosum	auf	Sol.	lycopersici,
	„	„	„	Nic.	tabacum,
	„	„	„	„	rustica,
	„	„	„	„	Sandarae,
	„	„	„	„	alata.

[1]) Herr Prof. Dr. König, Direktor des Tabakforschungsinstituts in Forchheim bei Karlsruhe hat uns in dankenswerter Weise die benötigten Solonazeensamen im Januar 1931 überlassen.

6. Sol. lycopersici auf Sol. tuberosum,
   „ „ „ Nic. rustica,
   „ „ „ „ tabacum,
   „ „ „ „ Langsdorffii,
   „ „ „ „ Sandarae,
   „ „ „ „ alata.

7. Nic. Sandarae auf Sol. tuberosum,
   „ „ „ „ lycopersici,
   „ „ „ Nic. rustica,
   „ „ „ „ tabacum,
   „ „ „ Datura stramonii.

8. Nic. alata auf Sol. tuberosum,
   „ „ „ „ lycopersici,
   „ „ „ Nic. rustica,
   „ „ „ „ tabacum.

9. Nic. suaveolens auf Nic. tabacum lanceolata,
   „ „ „ „ rustica,
   „ „ „ Sol. lycopersici.

10. Nic. longiflora auf Salpiglossis sinuata,
    „ „ „ Nic. rustica.

b) Das Vorkommen von Normalpräzipitinen.

Das Auftreten von Niederschlägen beim Zusammenbringen von Antigen und Normalserum, d. h. Serum von nicht immunisierten Tieren, hat zu der Annahme von sog. Normalpräzipitinen geführt. Nach Wells (a. a. O., S. 130), ist es nicht bekannt, ob diese Normalpräzipitine dieselben Kräfte sind, die die Reaktionen in sehr verdünnten Immunseris zustande bringen. Möglicherweise stellen sie unspezifische Antikörper dar, welche durch natürliche Immunisierung durch fremde, von den Eingeweiden aus in den Körper eindringende Proteine entstanden sind; denn sie sind in früheren Lebzeiten nicht vorhanden. Weit verbreiteter als bei tierischen antigenen Eiweißstoffen ist die Niederschlagsbildung beim Zusammenbringen von Antigenen pflanzlicher Herkunft im Normalserum, wie aus den Arbeiten der botanischen Serologen zur Genüge hervorgeht. Oft reichen diese Reaktionen ebensoweit wie mit Immunserum. Hannig und Slatmann[1]) wollen deshalb für derartige Niederschläge die neutrale Bezeichnung Normalpräzipitate verwendet wissen.

Kostoff hat der Verbreitung sog. Normalpräzipitine auch bei seinen Versuchspflanzen besondere Untersuchungen gewidmet und in zahlreichen Fällen ihr Vorhandensein festgestellt. Bei den Objekten der medizinischen Serologen hat die Annahme, daß Normalpräzipitine auf natürlichem Wege entstehen, eine gewisse Berechtigung; bei Pflanzen dürfte diese Deutung der auftretenden Niederschläge wohl keine Gültigkeit haben. Es ist anzunehmen, daß derartige Reaktionen auf Kräfte zurückzuführen sind, die mit einer Antigen-Antikörpervereinigung in keinem Zusammenhang stehen.

Wenn wir trotz der Ablehnung der Normalpräzipitine Extrakte aus normalen Pflanzen auf ihr gegenseitiges Präzipitationsvermögen geprüft haben, dann geschah es deshalb, weil wir über die Niederschlagsbildung der zur Verwendung kommenden Extrakte überhaupt Anhaltspunkte gewinnen und die Ergebnisse mit denen Kostoffs vergleichen mußten und weil schließlich bei den Versuchen über Antikörperbildung immunisierter Pflanzen

[1]) Vgl. E. Hannig, und W. Slatmann, Phytoserologische Untersuchungen. (Planta. Bd. 5. 1928. S. 136 f.)

in sehr vielen Fällen mit dem Auftreten von Normalringen zu rechnen und eine Konstanz ihres Vorkommens besonderer Beachtung wert war, zumal Kostoff nur in engen Grenzen schwankende Resultate erzielt hat.

Von den nachstehend verzeichneten Pflanzen wurden in der Zeit vom 8.—11. 6. Extrakte nach der oben beschriebenen Methode hergestellt und auf ihr gegenseitiges Präzipitationsvermögen geprüft: 1. Nicotiana rustica, 2. Nicotiana tabacum, 3. Nicotiana tabacum lanceolata, 4. Nicotiana glauca, 5. Nicotiana alata, 6. Nicotiana Sandarae, 7. Nicotiana longiflora, 8. Nicotiana suaveolens, 9. Solanum tuberosum, 10. Solanum lycopersici, 11. Datura stramonii und Salpiglossis sinuata.

Das Ergebnis war während der bis auf 1 Std. ausgedehnten Beobachtungszeit negativ. Den gleichen negativen Erfolg hatten Versuche, in denen nur Blätter mittleren Alters zur Verwendung kamen oder wenn nur Stengelteile zur Extraktion genommen wurden. Auch das Alter der verwendeten Pflanzen selbst war ohne Einfluß auf den Ausfall der Reaktionen.

Das Resultat dieser Versuche stimmt mit denen Kostoffs nicht überein, der nach Tab. 4 bei Verwendung von Salpiglossisextrakt mit allen auch von uns untersuchten Pflanzen Niederschläge erhielt. Dagegen sind die mit Tomatenextrakt gewonnenen Ergebnisse gleichlautend mit unseren. Auch Silberschmidts Resultate (Tab. 2) decken sich nicht mit denen Kostoffs, bestätigen aber nach Tab. 4 unsere eigenen, indem auch hier die Salpiglossisreihen in der von uns gewählten Beobachtungszeit keine Niederschläge ergaben.

Nach dem Hinweis Kostoffs (S. 57), daß durch Verwendung der Extraktionsmittel Alkohol, Äther und Chloroform die Stärke der Ringbildung beeinträchtigt wird, lag die Vermutung nahe, daß das Ausbleiben der Niederschlagsbildung in unseren Versuchen eine Folge der Vorextraktion sei. Daß aber auch nach dieser Vorbehandlung Stoffe in Lösung vorhanden waren, bewies die Braunfärbung der Extrakte beim Kochen mit Salpetersäure und Niederschlagsbildung bzw. auftretende Trübung bei Zugabe von absolutem Alkohol. Da jedoch das Vorhandensein sog. Normalpräzipitine stets eine Störung für serologisches Arbeiten bedeutet, und man auf ihre Beseitigung bedacht sein muß, und anderseits die Wertung der Präzipitinreaktion immer einen Vergleich der Reaktion des Normalserums mit der des Immunserums darstellt, konnte das Ausbleiben von Niederschlägen bei Verwendung normaler ungepfropfter Pflanzen nur von Vorteil für die Beurteilung der Reaktionen mit immunisierten Pflanzen sein. Auch ergibt sich aus Kostoffs Zusammenstellung (S. 56 und 57), daß in seinen Versuchen durch die Vorextraktion der Ausfall der Immunreaktionen nur in geringem Maße und nie grundsätzlich beeinflußt wurde.

c) Versuche mit gepfropften Pflanzen.

Die Herstellungsweise der zu diesen Versuchen notwendigen Extrakte ist schon oben beschrieben. Die Pfropfungen bestanden 4—7 Wochen. Nur gutgewachsene Pflanzen kamen zur Verarbeitung. Als Antigen dienten Extrakte aus ungepfropften Pflanzen der Unterlagssorte. Dem Immunserum entsprach das Extrakt aus dem Pfropfreis, dem Normal- oder Kontrollserum das aus einer ungepfropften Pflanze derselben Art, der das Reis zugehörte.

Bei all den zahlreichen und oft wiederholten Versuchen, bei denen auch die Präzipitinmethode nach Mez zur Anwendung kam, da ihre Emp-

findlichkeit nach Moritz[1]) größer sein soll als die der Kapillarmethode, und bei denen ferner Extrakte verschiedener Pflanzenteile und Pflanzen verschiedener Verwachsungsdauer zur Reaktion gebracht wurden, trat während der üblichen Beobachtungszeit keine Ring- bzw. Niederschlagsbildung ein. Auch das besonders beachtete Pfropfpaar Nicotiana rustica — Solanum tuberosum, das bei Kostoff eindeutig zu positiver Immunkörperbildung geführt hat, ergab stets nur negative Resultate.

Suchen wir die Gründe aufzudecken, die für das negative Resultat zum mindesten bei dem Paar Nicotiana rustica — Solanum tuberosum verantwortlich sein können, dann ist, falls man nicht annimmt, daß selbst Sorten derselben Art[2]) verschiedene Immunisierungsfähigkeit aufweisen, in erster Linie die Vorextraktion als Ursache in Erwägung zu ziehen. Daß aber in unseren Extrakten gelöste Stoffe vorhanden waren, ist schon oben erwähnt. Der bei Zugabe von absolutem Alkohol erhaltene Niederschlag gab jedoch in keinem Falle eine eindeutige Biuretreaktion, so daß, danach zu urteilen, Eiweißstoffe in chemisch nachweisbarer Menge kaum vorhanden waren; denn sowohl die Eßbach- als die Salpetersäurekochprobe stellen keine eindeutigen Eiweißreaktionen dar. Es scheint, daß der Alkoholniederschlag in der Hauptsache von Amino- bzw. Nukleinsäuren herrührt. Wenn nun die von Kostoff beschriebenen Reaktionen ebenfalls an das Vorhandensein von Eiweißstoffen gebunden wären, dann wäre mit dem Fehlen dieser Stoffe eine Erklärung für unsere negativen Resultate gegeben. Unverständlich blieben dann allerdings die positiven Ergebnisse Kostoffs, der doch ebenfalls nach der Mezschen Vorschrift extrahiert zu haben angibt.

Daß Kostoff die Mezschen Anweisungen eingehalten hat, mußte auch Silberschmidt (a. a. O., I, S. 131) in Zweifel ziehen. Vergleicht man nämlich die bei Kostoff in Tab. 18 a) und b) bzw. 18 e) und f) aufgeführten Ergebnisse mit den in Tab. 14 bzw. 10 niedergelegten, so drängt sich, vorausgesetzt, daß jede Reaktion mehrmals angestellt wurde und Schwankungen nur selten auftraten, die Vermutung auf, daß eine Vorextraktion, wenn nicht gerade völlig unterblieb, so doch nur in geringem Maße ausgeführt wurde.

2. Mit gepfropften Pflanzen angestellte Versuche, zu denen das Pflanzenmaterial nur unvollständig vorextrahiert wurde.

Um nun unsere Arbeitsweise eng an die Kostoffs anzuschließen, haben wir in den folgenden Versuchen unser Pflanzenmaterial nicht nach genauer Mezscher Vorschrift, sondern kürzer und unvollständiger extrahiert:

20 g Frischsubstanz wurden unter Zusatz von weinsäurehaltigem Alkohol fein zerrieben, mit insgesamt 100 ccm desselben Lösungsmittels in Erlenmeyerkolben gespült und nach öfterem Umschütteln und Absitzenlassen auf Papierfilter gebracht. Dann wurde unter Bedeckthalten des Trichters mit 100 ccm Äther und 100 ccm Chloroform nachgewaschen. Die Extraktion des trockenen Pulvers wurde mit 20 ccm Wasser während 2 Std. vorgenommen. Die resultierenden Extrakte waren mehr oder weniger gelb bis braun gefärbt,

[1]) O. Moritz, Zur Kritik der Phytoserologie. (Biolog. Zentralbl. Bd. 48. 1928. S. 431—443.)

[2]) Es ist wohl kaum anzunehmen, daß Kostoff mit der von uns verwendeten Kartoffelsorte „Görsdorfer Kaiserkrone" gearbeitet hat!

ließen sich aber leicht blank filtrieren und ergaben sowohl mit absolutem Alkohol als auch mit Eßbach starke Fällungen. Infolge Eigenfärbung der Alkoholniederschläge konnte eine positive Biuretreaktion nicht mit Sicherheit erhalten werden. Die Reaktionsanstellung war die gleiche wie oben beschrieben. In der unten folgenden Zusammenstellung (Tab. 1) sind außerdem die Verdünnungen der Antigenlösungen aufgeführt, in denen bei unverdünntem „Immun- bzw. Normalserum" Ring- bzw. Niederschlagsbildung während einer Stunde festgestellt wurde. Die Zeichen +++, ++, +, ± und 0 bedeuten schätzungsweise die Stärke der aufgetretenen Reaktionen. Nach Dichte und Stärke des Ringes allein den Erfolg einer Immunisierung zu beurteilen, wie es Kostoff getan hat, ist unseres Erachtens, besonders bei Gegenwart von Normalringen, nicht statthaft.

Tabelle 1.

Verdünnungen	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
I. Nicotiana rustica Reis auf:					
a) Solanum tuberosum:					
Reis	++	+	+	0	
Kontrolle	++	+	+	±	0
b) Nicotiana glauca:					
Reis	0	0	0		
Kontrolle	0	0	0		
c) Nicotiana suaveolens:					
Reis	+	±			
Kontrolle	++	+			
d) Solanum lycopersici:					
Reis	0	0			
Kontrolle	±	0			
e) Nicotiana lanceolata					
Reis	++	±	0		
Kontrolle	++	+	0		
f) Nicotiana tabacum:					
Reis	0	0	0	0	
Kontrolle	0	0	0	0	
g) Nicotiana Langsdorffii:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
h) Salpiglossis sinuata:					
Reis	++	+	0		
Kontrolle	++	±	0		
II. Solanum tuberosum Reis auf:					
a) Nicotiana rustica:					
Reis	++	+	+	0	
Kontrolle	++	+	±	0	
b) Solanum lycopersici:					
Reis	+	0			
Kontrolle	±	0			
c) Nicotiana Langsdorffii:					
Reis	++	±			
Kontrolle	+	±			
d) Nicot. glauca:					
Reis	+	0			
Kontrolle	+	0			
e) Nicot. Sandarae:					
Reis	++	±	0		
Kontrolle	++	±	0		

Tab. 1. (Fortsetzung.)

Verdünnungen	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
III. Nicotiana glauca Reis auf:					
a) Nicot. rustica:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
b) Nicot. tabacum:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
c) Solanum tuberosum:					
Reis	+	±	0		
Kontrolle	+	±	0		
d) Solanum lycopersici:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
e) Datura stramonii:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
IV. Solanum lycopersici Reis auf:					
a) Nicotiana rustica:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
b) Nicot. Langsdorffii:					
Reis	++	0			
Kontrolle	+	0			
c) Nicotiana glauca:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
d) Nicotiana Sandarae:					
Reis	+	0			
Kontrolle	±	0			
e) Nicotiana alata:					
Reis	0	0			
Kontrolle	±	0			
f) Nicotiana longiflora:					
Reis	+	0			
Kontrolle	+	±	0		
g) Datura stramonii:					
Reis	±	0			
Kontrolle	+	0			
h) Nicotiana tabacum:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
i) Solanum tuberosum:					
Reis	+	±	0		
Kontrolle	+	+	0		
V. Nicotiana Langsdorffii Reis auf:					
a) Nicotiana rustica:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
b) Solanum lycopersici:					
Reis	±	0			
Kontrolle	±	0			
c) Datura stramonii:					
Reis	±	0			
Kontrolle	±	0			

Tab. 1. (Fortsetzung.)

Verdünnungen	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
VI. Nicotiana suaveolens Reis auf:					
a) Nicotiana rustica:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
b) Nicotiana tabacum lanceolata:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
VII. Nicotiana Sandarae Reis auf:					
a) Solanum tuberosum:					
Reis	++	+	0		
Kontrolle	++	±	0		
b) Solanum lycopersici:					
Reis	±	0			
Kontrolle	±	0			
VIII. Nicotiana alata Reis auf:					
a) Solanum tuberosum:					
Reis	++	+	0		
Kontrolle	++	±	0		
b) Solanum lycopersici:					
Reis	0	0			
Kontrolle	±	0			
IX. Nicotiana longiflora Reis auf:					
a) Solanum tuberosum:					
Reis	++	±	0		
Kontrolle	+	±	0		
b) Solanum lycopersici:					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
c) Nicotiana rustica					
Reis	0	0			
Kontrolle	0	0			
d) Salpiglossis sinuata:					
Reis	++	+	±		
Kontrolle	++	+	±	0	

Zum leichteren Vergleich unserer Ergebnisse mit den in Kostoffs Tab. 10 und 12 angegebenen dienen die folgenden Zusammenstellungen (Tab. 2), wobei unsere Normal- und Immunreaktionen als gleichwertig aufgeführt werden.

Aus den Versuchen ist demnach auf eine weitgehende Übereinstimmung zwischen Kostoffs und unseren Ergebnissen zu schließen. Gleichwohl sind bestimmte Abweichungen festzustellen, für die sich nicht ohne weiteres eine Erklärung geben läßt. Was den Kernpunkt des Problems, nämlich die Frage der Antikörperbildung im Verlauf der Pfropfsymbiose betrifft, so kann aus unseren Versuchen in keinem der geprüften Fälle ein positiver Schluß gezogen werden. Bei Kostoff gab das Versuchspaar Nicotiana rustica — Solanum tuberosum positive Reaktion. Wir kommen in beiden Fällen (I a und II a) zu einem negativen Resultat,

indem stets die Kontrollextrakte ebensoweit reagierten wie die aus dem Reis gewonnenen. Auch für das Paar Nicotiana Langsdorffii — Nicotiana rustica sind unsere Versuche negativ ausgefallen, wo Kostoff very slight aquirement of precipitins gefunden hat.

Tabelle 2.

	Eigenes	Kostoffs
	Ergebnis	
I. Nicotiana rustica gegen:		
Solanum tuberosum	++	+++
Nicotiana glauca	0	0
Nicotiana suaveolens	++	0
Solanum lycopersici	0	0
Nicotiana tabacum	0	0
Nicotiana Langsdorffii . . .	0	0
Salpiglossis sinuata	++	++++
II. Solanum tuberosum gegen:		
Nicotiana rustica	++	+++
Solanum lycopersici	+	0
Nicotiana Langsdorffii . . .	+	++
Nicotiana glauca	+	0
III. Nicotiana glauca gegen:		
Nicotiana rustica	0	0
Nicotiana tabacum	0	0
Solanum tuberosum	+	0
Solanum lycopersici	0	0
IV. Solanum lycopersici gegen:		
Nicotiana rustica	0	0
Nicotiana glauca	0	0
Nicotiana alata	±	0
Nicotiana tabacum	0	0
Solanum tuberosum	+	0
V. Nicotiana Langsdorffii gegen:		
Nicotiana rustica	0	0
VI. Nicotiana suaveolens gegen:		
Nicotiana rustica	0	0
VII. Nicotiana alata gegen:		
Solanum tuberosum	++	++
Solanum lycopersici	±	0

3. Weitere Präzipitinversuche unter Berücksichtigung des Alters der Pflanzenteile und des Pfropfpaares Solanum tuberosum — Nicotiana rustica.

Da für uns an der Richtigkeit der tatsächlichen Befunde Kostoffs nicht zu zweifeln war und unsere Ergebnisse nur dem Grade nach von denen Kostoffs abwichen, allerdings so, daß ein Beweis für eine Antikörperbildung nicht gegeben war, mußten zum mindesten für das Paar Nic. rust. — Sol. tuberosum eingehendere und zahlreichere Versuche angestellt werden. Um so mehr schon deshalb, weil auch in der medizinischen und botanischen Literatur sehr oft negative Resultate als durch ungeeignete Versuchstiere bedingt verzeichnet werden. Als besonders aufschlußreich

sei eine Arbeit von Uhlenhut[1]) angeführt, die insofern unserem Problem sehr nahesteht, als es sich dort um die biologische Unterscheidung vom Blut nahe verwandter Tiere handelt. Es ließen sich Kaninchen gegen das Blut von Hasen immunisieren, ebenso Huhn und Taube, und Mensch und Affe gegeneinander. Frühere Versuche dieser Art waren negativ. „Die vereinzelten negativen Resultate hat man verallgemeinert, vielleicht in der vorgefaßten Meinung, daß die nahe Verwandtschaft ein Hindernis der Präzipitinbildung darstellte. Man hätte aber die Tatsache berücksichtigen müssen, daß z. B. gar nicht selten von 6—8 Kaninchen, die mit ganz fremdem Eiweiß, z. B. Menschenblut, vorbehandelt sind, nur zwei brauchbare Sera liefern. Eine so große Rolle spielt die Individualität des Tieres! Ich muß es daher als einen besonders glücklichen Umstand bezeichnen, daß meine drei mit Hasenblut gespritzten Kaninchen so prompt wirksame Sera geliefert haben."

Auch Kostoff gibt im Falle des Paares Nic. rust. — Nic. Rusbyi (a. a. O., S. 50) individuelle Verschiedenheiten an, sowohl bezüglich der Stärke der Normalreaktion als der Zeit, innerhalb der die Antikörperbildung ihren höchsten Grad erreichte.

Die zu diesem Zwecke verwendeten Pfropfungen waren vom 15. bis 26. 6. 1931 hergestellt worden. Die Reaktionen wurden vom 27. 7. bis 6. 8. ausgeführt. Die Verwachsungsdauer betrug demnach 4—6 Wochen. Die Extrakte wurden nach der zuletzt beschriebenen Methode bereitet. Die nachfolgend aufgeführten Versuche sind dahin zu unterteilen, daß einmal nur Planzenteile mittleren Alters, dann solche jüngeren und älteren Stadiums zur Extraktgewinnung benützt wurden. Außerdem sind jeweils zwei verschiedene Antigene gegenüber den Immun- und Kontrollextrakten geprüft worden, um Unterlagen für möglicherweise durch Verwendung verschiedener Antigene bedingte Schwankungen des Präzipitinerfolges zu gewinnen.

a) Versuche mit Pflanzenteilen mittleren Alters.

Die Immunextrakte wurden aus mittleren Blättern und dem entsprechenden Stengelstück unter Ausschluß des Gipfels und der jüngeren und der 3—4 älteren, unteren Blätter gewonnen.

Als Antigenlieferant dienten ebensolche Rusticablätter und Stengelteile von ungepfropften Pflanzen. Dasselbe gilt für die Kontrollextrakte aus normalen Kartoffelpflanzen. R bedeutet Reis, K Kontrolle und A Antigenextrakt; die Indizes 1, 2, 3 usf. die Nummern der Pflanzen. Die Versuche sind in Tab. 3 zusammengestellt.

Tab. 3. Verdünnungen der Antigenextrakte.

Versuch 1.

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
1 a) Sol. tub. R_1 gegen Nic. rust. A_1 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_1 gegen Nic. rust. A_1 . .	++	±	0	
1 b) Sol. tub. R_1 gegen Nic. rust. A_2 . .	++	+	±	
Sol. tub. K_1 gegen Nic. rust. A_2 . .	++	+	0	

[1]) Uhlenhut, Ein Verfahren zur Unterscheidung von Blut verwandter Tiere. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. S. 1673.)

Dieselben Extrakte 24 Std. im Eisschrank aufbewahrt, wobei die Färbung intensiver wurde, die Extrakte aber klar blieben, gaben folgende Reaktion:

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
1 c) Sol. tub. R_1 gegen Nic. rust. A_1 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_1 gegen Nic. rust. A_1 . .	++	+	0	
1 d) Sol. tub. R_1 gegen Nic. rust. A_2 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_1 gegen Nic. rust. A_2 . .	++	+	0	

Nach 48 stünd. Stehen im Eisschrank waren die Lösungen trübe. Die Filtrate ergaben keine Reaktionen mehr.

Versuch 2.

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
2 a) Sol. tub. R_2 gegen Nic. rust. A_3 . .	++	±	0	
Sol. tub. K_2 gegen Nic. rust. A_3 . .	++	±	0	
2 b) Sol. tub. R_2 gegen Nic. rust. A_4 . .	++	+	±	0
Sol. tub. K_2 gegen Nic. rust. A_4 . .	++	+	±	0

Extrakte gaben nach 48 stünd. Stehen im Eisschrank und Filtration keine Reaktion mehr.

Versuch 3.

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
3 a) Sol. tub. R_3 gegen Nic. rust. A_5 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_3 gegen Nic. rust. A_5 . .	++	±	0	
3 b) Sol. tub. R_3 gegen Nic. rust. A_6 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_3 gegen Nic. rust. A_6 . .	++	±	0	

Nach 2 tägigem Aufbewahren im Eisschrank ergaben die unverdünnten Filtrate in allen Reihen die Reaktion ±.

Versuch 4.

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
4 a) Sol. tub. R_4 gegen Nic. rust. A_7 . .	+	±	0	
Sol. tub. K_4 gegen Nic. rust. A_7 . .	+	+	0	
4 b) Sol. tub. R_4 gegen Nic. rust. A_8 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_4 gegen Nic. rust. A_8 . .	++	+	0	

Versuch 5.

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
5 a) Sol. tub. R_5 gegen Nic. rust. A_9 . .	++	+	0	
Sol. tub. K_5 gegen Nic. rust. A_9 . .	++	±	0	
5 b) Sol. tub. R_5 gegen Nic. rust. A_{10} .	++	+	±	
Sol. tub. K_5 gegen Nic. rust. A_{10} .	++	+	0	

Nach den Versuchen 1 a und b, 3 a und b, sowie 5 a und b wäre eine Präzipitinbildung als Folge der Pfropfung nicht auszuschließen; zu einem sicheren Nachweis der Antikörperbildung erscheinen die Ergebnisse

besonders mit Rücksicht auf Versuch 4 a nicht ausreichend. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß nach 48 stünd. Stehen im Eisschrank bei + 4° die Extrakte ihr Präzipitationsvermögen fast völlig eingebüßt hatten. Ein ähnliches Resultat hat auch Silberschmidt insofern erhalten, als seine Lösungen, die aus vorextrahiertem Material nach 60 stünd. Aufbewahrung in Chloroformatmosphäre hergestellt wurden, z. T. ebenfalls keine Niederschläge mehr ergaben, obwohl sie, unmittelbar nach der Vorextraktion gewonnen, kräftig positiv reagiert hatten (vgl. Silberschmidt, I, Tab. 2 und 4). Wenn wir Bakterien als Ursachen des Präzipitinschwundes ausschließen, dann liegt die Annahme nahe, daß die „Präzipitine“ in Lösung nur sehr wenig haltbar sind und sich so von den Antikörpern tierischer Herkunft, die ja jahrelanges Aufbewahren vertragen, deutlich unterscheiden oder daß Chromogene, deren Oxydationsprodukte die Färbung der Extrakte verursachen und beim Stehen an der Luft sich polymerisieren und schließlich ausfallen, die Präzipitine mit in den Niederschlag reißen und so dem Nachweis entziehen.

Wie die Versuche 1, 2 und 5 zeigen, läßt der Ausfall der Reaktionen eine deutliche Abhängigkeit von den jeweiligen Antigenlösungen erkennen, obwohl, nach dem Äußeren zu urteilen, nur gleichartiges Material zur Extraktion verwendet worden war. Aus den Versuchen 2 und 5 ist ersichtlich, daß man bei unzulänglicher Anstellung von Kontrollreaktionen leicht zu Resultaten gelangen kann, die eine Mitwirkung von Antikörpern bei der Ringbildung zu erweisen scheinen, tatsächlich aber durch das verschiedene Präzipitationsvermögen der Antigene zustande gekommen sind.

b) Versuche, in denen ältere und jüngere Pflanzenteile zur Extraktion verwendet wurden.

In den nachstehend verzeichneten Versuchen (Tab. 4) sind sowohl für die Kontroll- und Immunextrakte als auch für die Antigenlösungen Pflanzenteile entweder jüngeren oder mittleren oder älteren Stadiums verwendet worden. Wo nichts Besonderes bemerkt ist, haben, wie in den vorigen Versuchen, Blätter und die dazugehörigen Stengelteile mittleren Alters Verwendung gefunden.

Tabelle 4.

			1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
1.	Sol. tub. R_6 gegen Nic. rust.$_{11}$	junge Blätter	+ + +	+ +	+	0
	Sol. tub. K_6 gegen Nic. rust.$_{11}$	und Gipfel	+ +	+	0	0
	Sol. tub. R_6 gegen Nic. rust.$_{11}$	ältere Blätter u.	+ +	±		
	Sol. tub. K_6 gegen Nic. rust.$_{11}$	entspr. Stengeltl.	+ +	±		
	Sol. tub. R_7 gegen Nic. rust.$_{11}$	junge Blätter	+ + +	+ +	+	0
	Sol. tub. K_7 gegen Nic. rust.$_{11}$	und Gipfel	+ + +	+ +	±	0
	Sol. tub. R_7 gegen Nic. rust.$_{11}$	ältere Blätter u.	+ +	+	0	
	Sol. tub. K_7 gegen Nic. rust.$_{11}$	entspr. Stengeltl.	+ +	+	0	
2.	Sol. tub. R_8 gegen Nic. rust.$_{12}$	junge Teile. . .	+ + +	+ +	±	0
	Sol. tub. K_8 gegen Nic. rust.$_{12}$		+ + +	+ +	±	0
	Sol. tub. R_8 gegen Nic. rust.$_{12}$	ältere Teile . .	+ +	+	0	
	Sol. tub. K_8 gegen Nic. rust.$_{12}$		+ +	+	0	
	Sol. tub. R_9 gegen Nic. rust.$_{12}$	junge Teile. . .	+ +	+	0	
	Sol. tub. K_9 gegen Nic. rust.$_{12}$		+ + +	+ +	+	0
	Sol. tub. R_9 gegen Nic. rust.$_{12}$	ältere Teile . .	+ +	±	0	
	Sol. tub. K_9 gegen Nic. rust.$_{12}$		+ +	+	0	

Tab. 4. (Fortsetzung.)

		1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
3. junge Teile . .	Sol. tub. R_{10} gegen Nic. rust.$_{13}$	++	+	±	0
	Sol. tub. K_{10} gegen Nic. rust.$_{13}$	++	+	0	0
ältere Teile . .	Sol. tub. K_{10} gegen Nic. rust.$_{13}$	++	+	0	
	Sol. tub. K_{10} gegen Nic. rust.$_{13}$	++	+	0	
4. junge Teile . .	Sol. tub. R_{11} gegen Nic. rust.$_{14}$	++	+	±	0
	Sol. tub. K_{11} gegen Nic. rust.$_{14}$	++	+	+	0
ältere Teile . .	Sol. tub. R_{11} gegen Nic. rust.$_{14}$	++	±	0	
	Sol. tub. K_{11} gegen Nic. rust.$_{14}$	++	+	0	
5. junge Teile . .	Sol. tub. R_{12} gegen Nic. rust.$_{15}$	++	+	±	0
	Sol. tub. K_{12} gegen Nic. rust.$_{15}$	++	+	0	0
ältere Teile . .	Sol. tub. R_{12} gegen Nic. rust.$_{15}$	++	+	0	
	Sol. tub. K_{12} gegen Nic. rust.$_{15}$	++	+	0	

Aus diesen Versuchen geht mit Deutlichkeit hervor, daß Extrakte aus jüngeren Pflanzenteilen durchweg stärkere und in größeren Verdünnungen auftretende Ringe gebildet haben, als die aus älteren Blättern und Stengeln, gleich ob die Antigen- oder Reis- bzw. Kontrollextrakte aus Material verschiedenen Alters hergestellt waren. Eine Mitwirkung von Antikörpern an dem Ausfall der Reaktionen konnte auch hier nicht erwiesen werden.

Da die Möglichkeit nicht auszuschließen war, daß die in unseren Versuchen verwendete Kartoffelsorte sich anders verhielt als die von Kostoff geprüfte, sind auch von anderen Pfropfpaaren jeweils mehrere auf ihr Reaktionsvermögen geprüft worden. Die Versuche mit je 5 Individuen der Paare Nic. rust. auf Nic. glauca und Sol. lycopersici auf Nic. tabacum gaben auch dieses Mal in keinem Falle Ringbildung.

Die des weiteren untersuchten Pfropfungen Sol. tuber. auf Nic. Langsdorffii und Nic. rust. auf Nic. suaveolens führten prinzipiell zu denselben Ergebnissen wie Sol. tuber. auf Nic. rust. Extrakte aus jüngeren Pflanzenteilen wiesen stets ein stärkeres Präzipitationsvermögen auf, als wenn sie aus älteren Blättern und Stengelstücken hergestellt waren; ein Einfluß der Pfropfung war auch hier nicht zu erkennen.

Einen Hinweis auf das erhöhte Präzipitationsvermögen von Extrakten jüngerer Pflanzenteile gibt die Tatsache, daß in diesen Lösungen die Alkoholniederschläge offensichtlich größer waren als in solchen aus älteren Blättern und Stengelteilen.

Zusammenfassend ist als wichtigstes Ergebnis dieser Versuche festzustellen, daß man bei Verwendung nicht gleichwertigen Pflanzenmaterials für die Immun- und Kontrollextrakte zu Resultaten gelangen kann, die eine Antikörperbildung vortäuschen, in Wirklichkeit aber nur den Ausdruck des auch ohne Pfropfung vorhandenen stärkeren Präzipitationsvermögens jüngerer Pflanzenteile darstellen.

c) Versuche, in denen die Unterlage auf Antikörperbildung geprüft wird.

Das Versuchspaar Sol. tuberosum auf Nic. rustica wurde des weiteren in der Weise verwendet, daß die Unterlage als „Immunserum" liefernder Partner benützt wurde. Dieses Verfahren schien um so berechtigter und erfolgversprechend, als die 2—4 Blätter, die die Unterlage trug,

viel dicker und dunkler grün waren als gleichwertige Blätter ungepfropfter Exemplare und bei gleicher Größe bis 2½ mal soviel wogen als letztere. Man konnte deshalb annehmen, daß solche Blätter in verstärktem Maße Antikörper zu bilden befähigt wären und eher einen Überschuß daran erkennen lassen würden als Organe, die stark im Wachstum begriffen sind oder ihren Assimilationsüberschuß an jüngere Organe abgeben.

Tabelle 5.

		Verdünnung der Antigene			
		1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
30. 7.:	Nicotiana rustica U_9[1]) gegen Sol. tub. A_1 . .	++	+	±	0
	Nicotiana rustica K_{13} gegen Sol. tub. A_1 . .	++	±	0	
3. 8.:	Nicotiana rustica U_{10}[2]) gegen Sol. tub. A_2 . .	++	+	+	0
	Nicotiana rustica K_{15} gegen Sol. tub. A_2 . .	++	±	0	
5. 8.:	Nicotiana rustica U_{11}[3]) gegen Sol. tub. A_3 . .	++	++	+	0
	Nicotiana rustica K_{16} gegen Sol. tub. A_3 . .	++	+	0	0

[1]) Reis ist am 29. 7. entfernt worden. [2]) Reis ist am 30. 7. entfernt worden.
[3]) Reis ist am 31. 7. entfernt worden.

Nach dem Ergebnis dieser in Tab. 5 aufgeführten Versuche wäre die Mitwirkung von Antikörpern an dem Ausfall der Reaktionen nicht auszuschließen; denn die Immunlösungen wiesen in allen Fällen ein höheres Präzipitationsvermögen auf als die Kontrollösungen. Im Hinblick aber auf die oben angeführten Versuche mit jüngeren und älteren Pflanzenteilen war ein endgültiges Urteil nicht zu fällen, da die sukkulenten Blätter der Unterlage als physiologisch junge aufgefaßt werden können. Daß nämlich infolge der Pfropfung die Stoffleitung von Unterlage zu Reis und umgekehrt nicht wie bei einer unversehrten Pflanze ist, beweisen offensichtlich einmal die öfters beobachtete Bildung von Kartoffelknollen oberhalb der Pfropfstelle und die Tatsache, daß die Achselknospen der Unterlagsblätter ähnlich wie bei entgipfelten Pflanzen stets zu starkem Austrieb neigen.

Um nun für Kontroll- und Immunpflanzen möglichst gleichartige Bedingungen zu schaffen, wurden am 6. 8. neue Pfropfverbindungen hergestellt und die als Kontrolle gedachten Rusticapflanzen in derselben Höhe, in der der Pfropfschnitt geführt wurde, entgipfelt. An Unterlage und Kontrolle wurden in der Folge alle Geiztriebe entfernt. Die Ausbildung der fraglichen Blätter war nun weitgehend gleichartig und Dicken- und Gewichtsunterschiede innerhalb 4 Wochen kaum merklich. Mit diesem Pflanzenmaterial wurden die in Tab. 6 verzeichneten Reaktionen erzielt.

Nach dem Ausfall dieser Reaktionen kann nicht gesagt werden, daß infolge Pfropfung das Präzipitationsvermögen erhöht worden sei; denn die Normalreaktion reichte auch hier bei Berücksichtigung der stets auftretenden Schwankungen ebensoweit wie die Immunreaktion. Gegenüber den 3 ersten Versuchen ist bei den am 31. 8. und 7. 9. angestellten Reaktionen eine schwache Steigerung des Präzipitationsvermögens zu verzeichnen, indem hier in 4 Fällen in Verdünnungen 1 : 20 eindeutig Ringbildung zu beobachten war. Auffallend ist das geringe Präzipitationsvermögen der Unterlage 11, für das eine Erklärung nicht gegeben werden kann. Da die Pflanze selbst sich äußerlich von den anderen nicht unterschied, könnte ein nicht mehr kontrollierbarer Faktor bei der Extraktbereitung dafür verantwortlich zu machen sein.

Tabelle 6.

	Verdünnungen der Antigene			
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
21. 8.: Nic. rust. U_1 gegen Sol. tub. A_4	+ +	+	±	0
Nic. rust. U_2 gegen Sol. tub. A_4	+ +	+	0	
Nic. rust. K_1 gegen Sol. tub. A_4	+ +	+	0	
22. 8.: Nic. rust. U_3 gegen Sol. tub. A_5	+ +	+	±	
Nic. rust. U_4 gegen Sol. tub. A_5	+ +	+	0	
Nic. rust. K_2 gegen Sol. tub. A_5	+ +	+	±	
28. 8.: Nic. rust. U_5 gegen Sol. tub. A_6	+ +	+	±	0
Nic. rust. U_6 gegen Sol. tub. A_6	+ +	+	0	
Nic. rust. K_3 gegen Sol. tub. A_6	+ +	+	±	0
31. 8.: Nic. rust. U_7 gegen Sol. tub. A_7	+ +	+	+	0
Nic. rust. U_8 gegen Sol. tub. A_7	+ +	+	±	0
Nic. rust. K_4 gegen Sol. tub. A_7	+ +	+	+	0
7. 9.: Nic. rust. U_9 geg. Sol. tub. A_8 u. $_9$	+ +	+	+	0
Nic. rust. U_{10} geg. Sol. tub. A_8 u. $_9$	+ +	+	0	0
Nic. rust. U_{11} geg. Sol. tub. A_8 u. $_9$	+	±	0	
Nic. rust. U_{12} geg. Sol. tub. A_8 u. $_9$	+ +	+	±	0
N. r. K_5 u. $_6$ geg. Sol. tub. A_8 u. $_9$	+ +	+	+	0

Die Extrakte dieses Versuches, 3 Tage über Eis aufbewahrt und filtriert, ergaben keine Ringbildung mehr.

Bei der Wichtigkeit des hier zur Frage stehenden Problems wäre es nicht nur erwünscht, sondern notwendig gewesen, daß Kostoff zum mindesten für seine beweisenden Versuche genauere Angaben über das verwendete Pflanzenmaterial und seine Zubereitung gemacht hätte. Das Verfahren Kostoffs, nach Stärke und Dichte des Ringes den Präzipitingehalt abzuschätzen, ist oben schon als nicht einwandfrei gekennzeichnet, so daß auch aus diesem Grunde seine Resultate nur schwer kontrollierbar erscheinen; denn auch der nämliche Beobachter wird bei den hier abzuschätzenden geringen Niederschlagsmengen eine Reaktion, die er an einem bestimmten Tage mit 2 + gewertet hat, nach 8 oder 14 Tagen sehr leicht mit 1 + oder 3 + kennzeichnen. Im Zusammenhang mit den oben angeführten Versuchsergebnissen scheinen ferner folgende Ausführungen Kostoffs besonderer Beachtung wert. Das dazugehörige Kurvenbild sei mit wiedergegeben.

On the day, when the graftings were made, extracts were obtained and the capacity for a normal precipitin reaction was tested. On the 5th, 10th, 15th, 20th, 25th, 30th, 35th, 40th, 45th, 50th, 60th, 80th and 100th days after the grafting, the aquired (immune) precipitin reaction and the normal precipitin reaction (if any) were determined. The difference between the precipitation capacity of the first and of the second (normal) test represents the aquired precipitation potency in the grafted union.

The results otbained in this way were summarized and plotted in figure 2. The curves show the precipitin reaction capacity of the shoots of Nicotiana Rusbyi plants A, B, and C growing as scions on Nicotiana rustica. When the grafts were made, the extract of plant A manifested no normal precipitin reaction "(—)", the extract of plant B a "trace", "(±)" and the extract of plant C showed "+" normal precipitin reaction with Nicotiana rustica normal extract. At 10 days after grafting, the grafted shoots of plant A manifested a trace of precipitin reaction; and this reaction increased in intensity with the time of growth on Nicotiana rustica until te 30th day (+ + + + +). At later dates, the level of the precipitin reaction remained constant. The increase of the precipitin capacity of B scions began at the same time (10 days). It reached the highest potency however, 40 days after grafting.

The normal precipitin reaction "(+)" manifested at first by the extract of the shoots of plant C, decreased during the first 10 days. Later, it began to increase, and

reached the highest point 35 days after grafting. The control tests which were always made when the immune precipitin capacity was tested, showed very slight variations from the control made at the time of grafting (compare the ordinate for 0 days figure 2).

Aus diesen Angaben ist zu entnehmen, daß jedes der drei benannten Reiser innerhalb 40 Tagen Material zu mindestens acht Extrakten liefern mußte. In den ersten 20 Tagen können wohl nur Blätter verwendet worden sein, und zwar in der Reihenfolge von unten nach oben. Daraus ergibt sich aber ein verschiedener physiologischer und Ernährungszustand der nacheinander zur Extraktion gelangten Blätter. In den ersten fünf Tagen nach der Pfropfung werden nämlich die unteren Blätter infolge noch ungenügender Wasserzufuhr von der Unterlage her in einen gewissen Welkezustand versetzt und als Folge davon, ebenso wie es bei entwurzelten oder abgeschnittenen Pflanzen der Fall ist (vgl. M o t h e s)[1]) an „Eiweißstoffen" verarmen. Dieser Zustand dürfte für die betreffenden Blätter der Pflanze C am 10. Tage

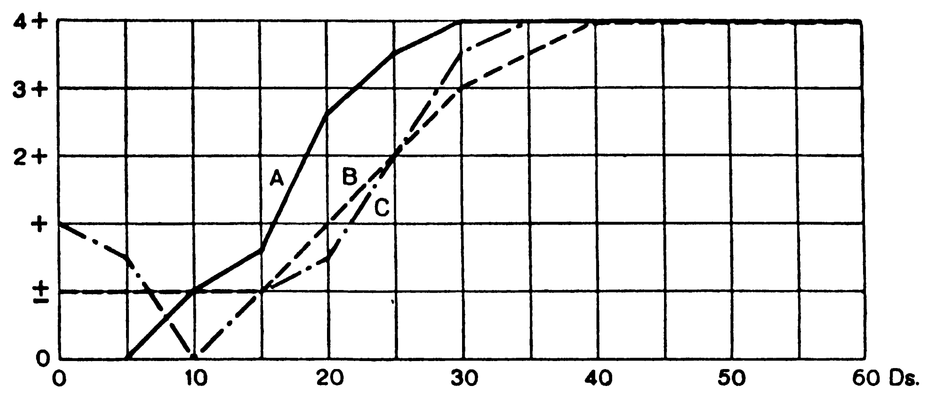


Fig. 2. Precipitin reaction capacity of shoots of N i c o t i a n a R u s b y i plants A, B, and C growing as scions on N i c o t i a n a r u s t i c a stocks.

seinen Tiefpunkt erreicht haben. Nach dieser Zeit mußten jüngere, eiweißreichere Blätter zur Extraktion kommen, da sie unter „normal" verlaufendem Stoffaustausch und Assimilation gewachsen sein dürften. Bei dem nach 30 Tagen verwendeten Extraktionsmaterial war das Maximum an Eiweißstoffen erreicht. Die in der Folge benützten Pflanzenteile waren bezüglich ihres Eiweißgehaltes als gleichwertig zu bezeichnen.

Demnach spiegelt die Kurve C in ihrem ganzen Verlauf den Eiweißgehalt des jeweils zur Verarbeitung kommenden Pflanzenmaterials wider, besonders wenn man annimmt, daß auch zu den Antigenlösungen, von denen, wie oben festgestellt wurde, der Ausfall der Reaktion ebenfalls abhängig ist, jeweils entsprechend dem fortschreitenden Wachstum inhaltsreichere Pflanzenteile verarbeitet wurden. Unsere Ansicht wird durch die Ergebnisse S i l b e r - s c h m i d t s [2]) weitgehend gestützt, der in der genannten Arbeit eine Analyse der am Fällungsvorgang beteiligten Faktoren zu geben versucht und in sehr zahlreichen Fällen der angeführten Präzipitinversuche den Eiweißgehalt (nach Eßbach bestimmt!) der zur Prüfung kommenden Preßsäfte für den Ausfall der Reaktionen verantwortlich macht.

---

[1]) K. M o t h e s , Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. (Planta. Bd. 12. 1931. S. 686—731.)

[2]) l. c. II.

II. Teil.

Versuche zur Gewinnung wirksamer Antigen- und Antikörperlösungen.

Versuchsziel, Arbeitsweise und Pflanzenmaterial.

Obwohl die im Jahre 1931 ausgeführten Versuche berechtigte Zweifel an der Gültigkeit der Ergebnisse Kostoffs aufkommen ließen und außerdem angestellte orientierende Versuche über die Wirkung verschiedener Vorbehandlung der Pflanzenteile auf das Präzipitationsvermögen der daraus gewonnenen Lösungen keine Resultate ergaben, die für die Kostoffsche Ansicht der Antikörperbildung sprachen, wurden in Anbetracht der Wichtigkeit des Problems[1]) unsere Untersuchungen im folgenden Jahre fortgesetzt. Dabei hielten wir an der Annahme fest, daß die theoretischen Voraussetzungen für eine Antikörperbildung auf dem zuerst von Kostoff gezeigten Wege der Pfropfung am ehesten erfüllt würden und nur die geeignete Methode zur Isolierung der eine spezifische Reaktion bedingenden Substanzen noch fehle. Es genügt hier der Hinweis, daß die Antigengewinnung aus grünen Pflanzenteilen zur Immunisierung selbst des tierischen Organismus, der zur Antikörperbildung in anerkannt hohem Grade befähigt ist, große Schwierigkeiten bietet. In noch höherem Maße war mit Schwierigkeiten bei der Antikörperdarstellung zu rechnen. Bei diesen Versuchen ließen sich gleichzeitig die Faktoren näher bestimmen, die, außer dem physiologischen Zustand des Pflanzenmaterials selbst, die Stärke der Niederschlags- bzw. Ringbildung maßgeblich beeinflussen.

Außer durch das angestrebte Ziel, ein an Antigen und Antikörper reiches und von störenden Begleitstoffen freies Reaktionsmaterial zu gewinnen, sind die folgenden Versuche von den vorhergehenden dadurch verschieden, daß ein etwa individuell-abweichendes Verhalten einzelner Versuchspflanzen durch Weiterkultur der gekappten Pflanze, die das Reis geliefert hatte oder durch Stecklingsvermehrung der Pflanze, die zur Unterlage geworden war, in den wichtigsten Fällen kontrollierbar wurde. Die Stecklingsvermehrung gelang bei Kartoffel und besonders bei Tomate ohne weiteres; bei Nic. rust. konnten jedoch nur zwei brauchbare Stecklingspflanzen gewonnen werden. Demnach entstammten z. B. im Falle des Paares Lycium barbarum auf Solanum lycop. das Immunserum dem Reis, das Kontrollserum der gekappten Mutterpflanze desselben und die Antigenlösung der Stecklingspflanze von der Unterlage. Analog wurde in den Fällen verfahren, in denen die Unterlage als Immunserum liefernder Partner Verwendung fand. Die Unterlage selbst (das Reis) ist deshalb nicht als Antigenlieferant benutzt worden, weil man annehmen konnte, daß vom Reis (von der Unterlage) kommende, dort im Überschuß gebildete Antikörper in der Unterlage (dem Reis) selbst gewisse Mengen Antigen binden und dem Nachweis entziehen würden. Bei den Pfropfungen, von denen entsprechende Stecklinge nicht zur Verfügung standen, wurden, wie früher, gleichwertige, ungepfropfte Pflanzen zur Extraktion verwendet.

Die Verarbeitung der das Immunserum liefernden Pflanzenteile fand gewöhnlich, wie früher, erst statt, nachdem sie 48 Std. von der Unterlage bzw. dem Reis getrennt waren.

[1]) Die Resultate Kostoffs haben berechtigtes Aufsehen erregt. U. a. halten Fischer und Gäumann (a. a. O., S. 122) und Tobler den Beweis der Antikörperbildung seitens der Pflanze grundsätzlich für erbracht. (F. Tobler, Untersuchungen und Betrachtungen über Immunität und Immunisierung im Pflanzenreich. Die Naturwissenschaften. Bd. 19. 1931. S. 413 ff.)

Die Arbeitsweise zur Gewinnung wirksamer Antigen- und Antikörperlösungen und die Kombination der zu prüfenden Extrakte wurde gegenüber dem Vorjahr in verschiedener Hinsicht geändert und erweitert:

1. Zu allen Versuchen wurden die Pflanzenteile unter Zusatz von chemisch reinem Quarzsand (pro analysi von Merck) fein zerrieben, um möglichst alle Inhaltsstoffe der Zellen freizulegen.

2. Die nach den früheren Angaben (S. 116) vorextrahierten Pflanzenteile wurden außer mit reinem Wasser mit 0,8proz. Kochsalzlösung ausgezogen. Auch zu den Verdünnungen fand neben dem Wasser physiologische Kochsalzlösung Verwendung.

3. Der frische Gewebebrei wurde auf einer Porzellan-Tellerpresse ausgepreßt und der Saft durch Klär (K) und dann durch Entkeimungsschichten (EK) von Seitz filtriert. Solcherart geklärte Säfte wurden z. T. auch durch reine Kohle (Carbo medicinalis Merck) entfärbt. Die klaren Filtrate wurden dann gegeneinander auf ihr Präzipitationsvermögen geprüft.

4. Aus vorextrahierten Pflanzenteilen hergestellte Antigenlösungen wurden mit unbehandelten blanken Preßsäften als Immun- bzw. Kontrollserum kombiniert.

5. Es wurde versucht, Antigen- und Antikörperlösungen dadurch zu gewinnen, daß der Organbrei mit 10proz. Kochsalzlösung extrahiert, das klare Filtrat mit reinem absolutem Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Äther und Alkohol ausgewaschen und dann teils mit Wasser, teils mit 0,8proz. Kochsalzlösung aufgelöst wurde. Diese Lösungen wurden sowohl gegenseitig als auch gegenüber reinen unbehandelten Preßsäften geprüft.

An Versuchspflanzen bzw. Pfropfungen standen in diesem Jahre folgende zur Verfügung:

1. Nic. rust. auf	Nic. tabacum, Nic. Sandarae, Sol. lycopersici, Sol. tuberosum.
2. Nic. tabacum auf. . .	Nic. rustica, Nic. Sandarae, Sol. lycopersici Sol. tuberosum.
3. Sol. lycopersici auf . .	Nic. rustica, Nic. tabacum, Nic. Sandarae, Sol. tuberosum, Lycium barbarum.
4. Sol. tuberosum[1]) auf .	Nic. rustica, Nic. tabacum, Sol. lycopersici, Lycium barbarum.
5. Lycium barbarum auf	Sol. lycopersici.

Es ist wohl kaum erforderlich, die zahlreichen einzelnen Versuche in extenso mitzuteilen, sondern es dürfte genügen, die an den Versuchspaaren Sol. tuber. auf Nic. rust. und Lycium barbarum auf Sol. lycop. gewonnenen Ergebnisse anzuführen, weil Kostoff bei diesen Pfropfungen Antikörperbildung nachgewiesen zu haben glaubt.

[1]) Aus Keimlingen der Sorte Paulsens Nieren gezogen.

1. Pflanzenmaterial wird nach Vorextraktion mit Wasser und parallel dazu mit physiologischer Kochsalzlösung ausgezogen.

Die Resultate dieser Versuche, in denen nach der im Vorjahre geübten Vorextraktion der Rückstand einmal mit Wasser und parallel dazu mit 0,8proz. Kochsalzlösung ausgezogen und die Verdünnungen mit Wasser bzw. Natriumchloridlösung hergestellt wurden, wichen unter Berücksichtigung der stets auftretenden geringen Schwankungen von denen des Vorjahres und untereinander grundsätzlich nicht ab. Bemerkenswert ist aber, daß nach Filtration durch K- und EK-Schichten im allgemeinen die Wasserextrakte geringere Niederschläge ergaben als die Kochsalzextrakte und daß das Präzipitationsvermögen in den Verdünnungen der ersteren etwas rascher abnahm als bei denen der Natriumchloridextrakte. Es kamen Fälle, in denen nur das Wasserextrakt Ringe gab, das Kochsalzextrakt aber nicht, bei unseren Versuchen nur selten vor, öfter aber der umgekehrte Fall. Dabei waren durchweg die Wasserlösungen etwas weniger intensiv gefärbt als die Kochsalzlösungen und behielten den anfänglichen Farbton beim Stehen auch länger bei als die letzteren. Daraus könnte man schließen, daß mit dem Rückgang der durch die Pigmente bedingten Färbung der Lösungen auch ihr Präzipitationsvermögen abnahm, was zur Voraussetzung hätte, daß durch den Elektrolytzusatz entweder mehr Chromogene in Lösung gingen oder daß ihre Autoxydation bzw. Polymerisation und Kondensation beschleunigt wurde. Was ferner den Eiweißgehalt der Lösungen betrifft, so kann wohl mit einem höheren Gehalt in den Kochsalzextrakten gerechnet werden, die Annahme aber, daß die Eiweißstoffe selbst in diesen Lösungen leichter fällbar wurden, ist in Anbetracht der Tatsache, daß Natriumchlorid als Lösungsmittel für solche Stoffe wirkt, nicht wahrscheinlich. Kontroll- und Immun-„Seren" haben kein unterschiedliches Verhalten erkennen lassen, so daß jedenfalls eine Mitwirkung von Antikörpern an dem Zustandekommen der Fällungsreaktionen nicht nachweisbar wurde.

2. Versuche mit unbehandelten, klaren Preßsäften.

Obgleich bei der gegenseitigen Kombination von unbehandelten Preßsäften von vornherein mit Störungsmöglichkeiten verschiedener Art, z. B. durch Lipoide, Fette, Alkaloide, höhere Kohlenhydrate u. a. zu rechnen war, sind auch reine Preßsäfte auf ihr Präzipitationsvermögen geprüft worden, einmal um die gesamten Zellinhaltsstoffe zur Reaktion zu bringen und zweitens, um eine künstliche Veränderung der etwa als Antigene bzw. Antikörper wirkenden und gegenüber Alkoholbehandlung vielleicht sehr empfindlichen Stoffe zu vermeiden. Daß mit letzterer Möglichkeit gerechnet werden mußte, beweisen die Beobachtungen u. a. von Alexnat[1]), Arzt[2]), Meyer[3]) und Bürger[4]), nach denen die bei ihren Verwandtschafts-

[1]) W. Alexnat, Über die Verwandtschaftsreaktionen innerhalb der Sympetalen. (Bot. Archiv. Bd. 1. 1922.)

[2]) H. Arzt, Serologische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Gerste mit besonderer Berücksichtigung des Eiweißausgleichs innerhalb der präzipitierenden Lösungen.

[3]) F. Meyer, Serologische Studien über Gattungsbastarde, Pfropfbastarde und Artbastarde. (Beitr. z. Biologie d. Pflanze. Bd. 17. 1929.)

[4]) Joh. Bürger, Serologische Parallelversuche zwischen Reserveeiweiß und Plasmaeiweiß. Diss. Berlin. 1930.

reaktionen als Antigene wirkenden spezifischen Eiweißstoffe durch Alkohol entweder unbrauchbar gemacht oder gelöst wurden.

Bei fast allen Preßsäften machte sich die bald eintretende starke Färbung unangenehm bemerkbar. Besonders intensiv und rasch färbten sich Säfte von Sol. tuber., Nic. Langsdorffii und besonders von Nic. Sandarae, welch letztere aus diesem Grunde überhaupt nicht verwendet werden konnten. Trotz Filtration durch K- und EK-Schichten trat in manchen Fällen schon nach 1 Std. Trübung und Flockung ein. Ringbildung wurde beim Zusammenbringen derartiger Säfte in einigen Fällen bis zu Verdünnungen von 1 : 160 festgestellt, ohne daß sich jedoch ein bevorzugtes Verhalten der „Immunseren" zu erkennen gab. Auch für das Auftreten von lytischen Ringen, die sich besonders bei Verdünnungen 1 : 20 und 1 : 40 häufig bildeten, war keine Gesetzmäßigkeit festzustellen[1]).

Unsere Versuche erfahren eine Bestätigung durch die Ergebnisse Silberschmidts, der in seiner zweiten Arbeit fast ausschließlich unbehandelte Preßsäfte verwendet hat. Die geringe Aussicht, mit derartigen inhomogenen Lösungen zu einwandfreien Resultaten zu kommen, beleuchten die in fast allen Tabellen (Tab. 2, 3, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 18 und 19) verzeichneten schon nach 1 Std. in den unvermischten Säften auftretenden Trübungen und Niederschläge.

Bei jenen Versuchen, in denen wir die Preßsäfte mit Kohlepulver geschüttelt haben, und nach Filtration durch K- und EK-Schichten wasserklare Lösungen erhielten, blieb auch beim Zusammenbringen von unverdünnten Antigen- und Immunlösungen jede Reaktion aus, obwohl auch in diesen Filtraten Fällung mit absolutem Alkohol weiße, flockige Niederschläge ergab. Demnach ergibt sich auch aus diesen Versuchen mit großer Wahrscheinlichkeit, daß die Pigmente an der Niederschlagsbildung maßgeblich beteiligt sind. Wohl ist damit zu rechnen, daß auch „Eiweißstoffe" an Kohle adsorbiert wurden; ihre vollständige Entfernung dürfte jedoch, nach dem Ausfall der Alkoholfällung zu urteilen, nicht erfolgt sein. Jedenfalls wäre in den unverdünnten Extrakten eine positive Reaktion zu erwarten gewesen, wenn hier Reaktionen hoher Empfindlichkeit, wie sie bei Antigen-Antikörperreaktionen zu beobachten ist, vorlägen.

3. Versuche, in denen nur das die Antigene liefernde Pflanzenmaterial vorextrahiert wurde und als Immunsera reine Preßsäfte zur Verwendung kamen.

Diese Versuchsanstellung ist aus folgenden Erwägungen heraus gewählt worden. Haben wir es bei der infolge Pfropfung etwa angeregten Antikörperbildung mit einem Analogon zu den Reaktionen des Tierkörpers zu tun und sind, wie hier, Eiweißstoffe die Träger der Reaktionen, dann mußte auch eine Methode erfolgversprechender erscheinen, die sich enger an das bei der pflanzlichen Eiweißdifferenzierung geübte und bewährte Verfahren anschloß. Obwohl bekanntlich tierisches Immunserum über Jahre in steriler Lösung wirksam bleibt und vorsichtiges Eintrocknen unbeschadet seiner Brauchbarkeit verträgt, wird es im allgemeinen ohne Vorbehandlung und frisch verwendet. Vor allem wird es keiner Alkohol- oder Chloroformbehandlung unterzogen, die zum mindesten zu einer Abschwächung des Serums

[1]) Auffallend war, daß die besonders in höheren Verdünnungen von 1 : 40 ab sofort entstandenen Ringe, meistens nach 5 Min. schon, wieder verschwanden.

führt. Dem Serum am nächsten dürfte von pflanzlichen Zubereitungen reiner Preßsaft aus frischen Pflanzenteilen stehen, wobei wir uns bewußt sind, daß ein solcher Preßsaft immer noch weniger dem Blutwasser, als vielmehr einem Preßsaft aus der ganzen Körpersubstanz eines Tieres gleichkommt und es sehr fraglich erscheint, ob mit einem derartigen Gemisch jemals eindeutige Präzipitinreaktionen erhalten würden.

Im Gegensatz zum Serum kann die zweite Reaktionskomponente, die Antigen-Zubereitung, leicht nach den Vorschriften des an dem Tierkörper arbeitenden Serologen hergestellt werden; sie muß blank sein und das spezifische Antigen frei von störenden Ballaststoffen, Lipoiden, Fetten u. a. enthalten.

Die derart verschiedene Zubereitung der die Antigene und Antikörper enthaltenden Lösungen erwies sich von besonderem Vorteil bei der Beobachtung auf Uhlenhuthsche Ringe, weil die Trennungsschichten der beiden Flüssigkeiten infolge verschiedenen spezifischen Gewichtes und der verschiedenen Färbung der beiden Lösungen schärfer hervortraten und länger erhalten blieben, als es bei gleicher Herstellungsweise der beiden Reaktionskomponenten der Fall war.

Die dem Immunserum entsprechenden Säfte wurden demnach in der Weise hergestellt, daß die frischen Pflanzenteile mit reinem Quarzsand fein zerrieben und der Brei durch Gaze abgepreßt wurde. Der Preßsaft ließ sich dann durch K- und EK-Schichten mittels einer Luftpumpe rasch blank filtrieren.

Die Antigen-Zubereitung erfolgte nach zweierlei Methoden: Einmal wurde, wie früher (S. 116), das Pflanzenmaterial mit weinsäurehaltigem Alkohol, dann Äther und Chloroform vorextrahiert, und das getrocknete Pulver mit Wasser bzw. mit 0,8proz. Kochsalzlösung ausgezogen. Im zweiten Falle wurden die Pflanzenteile unter Quarzsandzusatz fein zerrieben und mit der doppelten Menge des Ausgangsgewichtes 10proz. Kochsalzlösung während 12 Std. unter öfterem Umschütteln im Eisschrank extrahiert. Dann wurde abgepreßt und durch K- und EK-Schichten filtriert. Das klare Filtrat wurde in die vierfache Menge absoluten Alkohols eingegossen, der Niederschlag absitzen lassen, nach Abgießen des überstehenden Alkohols auf Papierfilter gebracht und mit Äther und Chloroform nachgewaschen. Nach dem Trocknen erfolgte die Auflösung entweder mit Wasser oder mit physiologischer Kochsalzlösung und zwar in einer dem Ausgangsfrischgewicht entsprechenden Menge. Die resultierenden Lösungen waren klar und bei der Temperatur des Eisschrankes mehrere Tage ohne Trübung haltbar. Die Färbung war gewöhnlich mehr oder weniger gelb, bei Nic. Sandarae dunkelgelb bis bräunlich, ein Hinweis, daß auch bei dieser Methode die Chromogene und Pigmente nicht völlig entfernt werden konnten. Auch hier fand zur Auflösung und zur Verdünnung teils Wasser, teils physiologische Kochsalzlösung Verwendung.

Aus rein technischen Gründen war es notwendig, mit den Antigenzubereitungen 1 oder 2 Tage vor der Reaktionsanstellung zu beginnen; die Preßsäfte wurden stets an demselben Tage gewonnen, an dem sie zur Reaktion gebraucht wurden. Zu den Reaktionen standen schließlich folgende Zubereitungen zur Verfügung:

1. Als „Immunserum“: Preßsaft aus Reis oder Unterlage (J);
2. als „Normal- oder Kontrollserum“: Preßsaft aus der dem Reis oder der Unterlage entsprechenden ungepfropften Pflanze (N);

3. als Antigenlösungen:
   a) Auszüge aus vorextrahiertem Pflanzenmaterial, und zwar
      1. mit destilliertem Wasser A_{1a},
      2. mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt A_{1b};
   b) mit 10proz. Kochsalzlösung extrahierte und mit Alkohol gefällte Antigene, die
      1. in destilliertem Wasser A_{2a},
      2. in physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurden A_{2b}.

Zu den nachfolgend angeführten Versuchen ist jeweils eine kurze Beschreibung des verwendeten Pflanzenmaterials gegeben, da sich nach unseren früheren Beobachtungen eine deutliche Abhängigkeit des Reaktionserfolges von dem physiologischen Zustand der Pflanzen ergeben hatte.

Versuche mit Solanum tuberosum auf Nicotiana rustica; gepfropft am 2. 6. 1932.

Versuch 1: Reis von Unterlage getrennt am 29. 6. J = Reis Sol. tub. Stengel und ausgewachsene Blätter. N = Sol. tub. Mutterpflanze des Reises; gleichwertige Teile. A = Nic. rust., gleichalte Pflanze wie Unterlage, Blätter und Stengel mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
2. 7.: J gegen A_{1a}	++	++	+	0			
N gegen A_{1a}	++	++	+	±	0		
J gegen A_{1b}	++	++	+	+	±	0	
N gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	0	
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	0	
N gegen A_{2a}	++	++	++	+	±	0	
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	±	
N gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	+	0

Die von diesem Versuch übriggebliebenen Lösungen wurden über Eis aufbewahrt und am 4. 7. neuerdings auf ihr Präzipitationsvermögen geprüft. Die Preßsäfte und die Antigene 1 mußten vorher filtriert werden. Die Antigene 1 geben mit den filtrierten Preßsäften keine Reaktion mehr. Für die Antigene 2 wurden folgende Reaktionen verzeichnet:

	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
J gegen A_{2a}	++	+	0	
N gegen A_{2a}	++	+	±	
J gegen A_{2b}	+	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	+	+	0

Versuch 2: Trennung von Unterlage und Reis am 4. 7., Reaktion am 7. 7. J = Reis Sol. tuberosum. N = Mutterpflanze des Reises und zwar: N_1 = ausgewachsene Blätter und entsprechendes Stengelstück, N_2 = junge Blätter und Stengel, A = aus gleichaltriger Pflanze von Nic. rustica.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
J gegen A_{1a}	++	++	++	+	0		
N_1 gegen A_{1a}	++	++	+	0			
N_2 gegen A_{1a}	++	++	++	+	±	±	0
J gegen A_{1b}	++	++	+	±	0		
N_1 gegen A_{1b}	++	++	±	±	0		
N_2 gegen A_{1b}	++	++	+	+	±	0	
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	0	
N_1 gegen A_{2a}	++	++	+	±	0		
N_2 gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	±	0
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	0		
N_1 gegen A_{2b}	++	++	±	0			
N_2 gegen A_{2b}	++	++	++	++	+	+	0

Versuch 3: Trennung von Unterlage und Reis am 23. 7., Reaktion am 26. 7. J = Reis Sol. tub.; Blätter und Stengel mittleren Alters. N = Mutterpflanze vom Reis und zwar: N_1 ausgewachsene Blätter mit dem entsprechenden Stengelstück; N_2 = Blätter und Stengel etwas älteren Stadiums, aber noch grün; A = Nic. rustica, gleichaltrig mit der Unterlage, Organe mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
J gegen A_{1a}	++	++	++	+	±	0	
N_1 gegen A_{1a}	++	++	++	+	0		
N_2 gegen A_{1a}	++	++	+	±	0		
J gegen A_{1b}	++	++	+	+	0		
N_1 gegen A_{1b}	++	++	+	+	0		
N_2 gegen A_{1b}	++	++	+	+			
J gegen A_{2b}	++	++	+	±	±	0	
N_1 gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	0	
N_2 gegen A_{2b}	++	++	++	+	0		

Versuche mit dem Paare Nicotiana rustica auf Solanum tuberosum; gepfropft am 3. 6. 1932.

Versuch 4: Trennung von Unterlage und Reis am 9. 7., Reaktionen am 12. 7. J = Reis Nic. rust. mittlere Blätter und entsprechendes Stengelstück. N = Seitentrieb der dekapitierten Mutterpflanze des Reises, mittlere Blätter und entsprechendes Stengelstück. A_1 = Schwesterpflanze zu der Unterlage, d. h. Keimling von derselben Knolle. A_2 = aus dem von der Unterlage stammenden Steckling mit Ausschluß der jüngsten Blätter und des Wipfels.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
J gegen A_{1a}	++	++	+	±	0		
N gegen A_{1a}	++	+	+	0	0		
J gegen A_{1b}	++	++	++	±	±	0	
N gegen A_{1b}	++	++	++	+	±	0	
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	+	0

Versuch 5: Reis und Unterlage getrennt am 11. 7. Antigenzubereitungen begonnen am 13. 7. Ausführung der Reaktionen am 15. 7. Das Ausziehen der Antigene mit Wasser bzw. physiologischer Kochsalzlösung wurde auf 24 Std. ausgedehnt. J = Blätter und entsprechendes Stengelstück mittleren Alters. N = gleichwertige Teile einer Nic. rust.-Pflanze. A = Schwesterpflanzen zur Unterlage unter Ausschluß jüngster und ältester Teile.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
J gegen A_{1a}	++	++	++	+	0		
N gegen A_{1a}	++	++	++	+	+	±	0
J gegen A_{1b}	++	++	++	++	+	0	
N gegen A_{1b}	++	++	++	++	+	+	0
J gegen A_{2a}	++	++	++	++	+	±	0
N gegen A_{2a}	++	++	++	++	+	+	0
J gegen A_{2b}	++	++	++	++	+	±	±
N gegen A_{2b}	++	++	++	++	+	+	±

Versuch 6: Reis und Unterlage getrennt am 15. 7., Reaktionen am 19. 7. J = Blätter und entsprechendes Stengelstück des Reises mit Ausschluß älterer und jüngster Teile. N_1 = Blätter und entsprechende Stengelstücke von Geiztrieben der Mutterpflanze, jedoch mit Ausschluß der Spitzen und jüngsten Blätter. N_2 = ausgewachsene frische Blätter und entsprechendes Stengelstück von gerade blühender Pflanze; Material zu N_2 ist physiologisch älter als das zu N_1. A = Schwesterpflanzen zu der Unterlage, mit Ausschluß älterer und jüngster Teile.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100
J gegen A_{1a}	++	++	++	+	±	0	
N_1 gegen A_{1a}	++	++	++	+	+	0	
N_2 gegen A_{1a}	++	++	+	±	0		
J gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	0	
N_1 gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	0	
N_2 gegen A_{1b}	++	++	+	±	0		
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	0	
N_1 gegen A_{2a}	++	++	++	+	±	±	0
N_2 gegen A_{2a}	++	++	++	±	0		
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	±	0
N_1 gegen A_{2b}	++	++	++	++	+	+	0
N_2 gegen A_{2b}	++	++	++	+	0		

Versuche mit dem Paar Sol. tuberos. auf Nic. rustica, wobei die Unterlage auf Antikörperbildung geprüft wird.

Versuch 7: Trennung von Unterlage und Reis am 18. 7., Reaktionen am 22. 7. J = 3 „sukkulente“ Blätter von Nic. rust. mit 12 cm langem Stengelstück = 48 gr. N_1 = der Unterlage entsprechende Blätter und Stengelstück von dekapitierter Pflanze. N_2 = Freilandpflanze blühend, etwa gleichgroße Blätter und entsprechender Stengelteil. A_1 = Mutterpflanze des Reises, Seitensprosse ohne jüngste Teile. A_2 = Schwesterpflanze vom Reis; Blätter und Stengel mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene							
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100	1 : 160
J gegen A_{1a}	++	++	++	+	+	0		
N_1 gegen A_{1a}	++	++	++	+	±	±	0	
N_2 gegen A_{1a}	++	++	+	+	±	0		
J gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	±	0	
N_1 gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	+	0	
N_2 gegen A_{1b}	++	++	++	+	+	0		
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	0		
N_1 gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	+	0	
N_2 gegen A_{2a}	++	++	++	±	0			
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	±	±	0
N_1 gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	+	±	0
N_2 gegen A_{2b}	++	++	++	+	±	0		

Versuch 8: Reis von Unterlage getrennt am 29. 7., Reaktionen am 2. 8. J = 2 sukkulente Blätter und entsprechendes Stengelstück = 36 gr. N_1 = 4 Blätter und entsprechendes Stengelstück von dekapitierter Rustica-Pflanze. N_2-Steckling von der Unterlage stammend; 6 Blätter und Stengel = 53 gr. A_1 = Schwesterpflanze zum Reis; Blätter und Stengel mittleren Alters. A_2 = Blätter und Stengelteile mit Ausschluß der Spitzen von Seitentrieben aus der Mutterpflanze des Reises.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 100	1 : 160
J gegen A_{1a}	++	++	+	+	0		
N_1 gegen A_{1a}	++	++	+	±	0		
N_2 gegen A_{1a}	++	++	+	+	±	0	
J gegen A_{1b}	++	++	++	+	±	0	
N_1 gegen A_{1b}	++	++	+	+	0		
N_2 gegen A_{1b}	++	++	++	+	±	±	0
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	±	0	
N_1 gegen A_{2a}	++	++	++	+	0		
N_2 gegen A_{2a}	++	++	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	±	±	0
N_1 gegen A_{2b}	++	++	++	+	±	0	
N_2 gegen A_{2b}	++	++	++	+	±	±	0

Versuch 9: Reis und Unterlage getrennt am 3. 8., Reaktionen am 6. 8. J = 1 Blatt und Stengelstück = 23 gr. N = 3 Blätter und Stengelstück von dekapitierter Rustica-Pflanze. A_2 = Seitentriebe der Mutterpflanze des Reises, ohne die Spitzen.

	Verdünnungen der Antigene						
	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 120	1 : 160
J gegen A_{2a}	++	++	++	+	±	0	
N gegen A_{2a}	++	++	++	+	±	0	
J gegen A_{2b}	++	++	++	+	±	±	0
N gegen A_{2b}	++	++	++	+	+	±	0

Überblicken wir das Ergebnis dieser mit dem Pfropfpaar Solanum tuberosum-Nicotiana rustica angestellten Versuche, so fallen vor allem die verhältnismäßig starken Verdünnungen auf, in denen einwandfrei Ringbildung zu beobachten war, während früher, wo das Material für die Antigen- und Antikörperlösungen gleiche Behandlung erfahren hatte, nur bis zu Verdünnungen von 1 : 20 eindeutige Präzipitation festgestellt wurde. In den schwächeren Verdünnungen ging der Ring bald in Schlierenbildung über und sank in weißen Flocken nieder; in vielen Fällen blieb an der Trennungsstelle der beiden Flüssigkeiten für längere Zeit eine wasserklare Zone (lytischer Ring) bestehen.

Ferner trat in diesen Versuchen der Einfluß des Alters der zu den Preßsäften verwendeten Pflanzenteile mehrfach hervor (Versuch 2, 3, 6, 7). Auch lassen die mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Antigenextrakte eine schwache Überlegenheit bei der Ringbildung gegenüber den Wasserextrakten erkennen. Dagegen hat kein einziger Versuch Unterlagen für die Mitwirkung von Antikörpern an dem Ausfall der Reaktionen geliefert und zu einer Bestätigung der Angaben Kostoffs geführt.

Versuche mit dem Pfropfpaar Lycium barbarum auf Tomate.

Nach den Angaben Kostoffs trat bei diesen Pflanzen keine Normalpräzipitinreaktion ein, die Antikörperreaktion ist mit ++ gekennzeichnet. Bei einem Ausbleiben der „Normalreaktion" ließen sich mit diesen Pflanzen klarere Resultate erwarten.

Die benötigten Pfropfungen sind am 24., 25. und 26. 5. hergestellt worden. Die Gipfel der Tomaten, die als Unterlage verwendet wurden, sind als Stecklinge eingepflanzt und zur Antigenbereitung verwendet worden. Die Ausführung der Reaktionen geschah in derselben Weise, wie sie früher beschrieben ist. In den Versuchen 2, 3, 8, 10, 11 ist als dritte Antigenzubereitung Preßsaft benützt worden, der wie die „Immun- und Normalsera" hergestellt war. Die Versuche sind ferner derart variiert, daß teilweise die „Sera" verdünnt und die Antigene in der Ausgangskonzentration verwendet wurden.

Versuch 1: Reis und Unterlage getrennt am 11. 6., Reaktionen am 13. 6. J = Reis ohne Spitze. N = Seitentrieb der Mutterpflanze ohne Spitze. A = Blätter und Stengelteil mittleren Alters.

	Verdunnungen der Antigene			
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
J gegen A_{1a}	++	+	0	
N gegen A_{1a}	++	+	±	0
J gegen A_{1b}	++	+	±	0
N gegen A_{1b}	++	+	±	0
J gegen A_{2a}	+	+	0	
N gegen A_{2a}	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	+	+	0
N gegen A_{2b}	++	+	+	0

Versuch 2: Reis und Unterlage getrennt am 14. 6., Reaktionen am 16. 6. J = Reis ganz. N = gleichgroßer Sproß von anderer Lyciumpflanze. A = Blätter und Stengelteile mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1a}	++	+	0		
N gegen A_{1a}	++	+	0		
J gegen A_{1b}	++	+	±		
N gegen A_{1b}	++	+	0		
J gegen A_{2a}	++	+	+	0	
N gegen A_{2a}	++	++	+	0	
J gegen A_{2b}	++	++	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	++	+	±	0

Versuch 3: Reis getrennt von Unterlage am 18. 6., Reaktionen am 20. 6. J = Reis ganz. N = 2 ganze Seitensprosse von der Mutterpflanze des Reises. A_1 und A_2 = Blätter und Stengelteile mittleren Alters. A_3 Preßsaft aus Steckling, von der Unterlage stammend; ohne Spitze und unterste Blätter.

	Verdünnungen der Antigene					
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60	1 : 80
J gegen A_{1a}	++	+	±	0		
N gegen A_{1a}	++	+	+	0		
J gegen A_{1b}	++	+	+	0		
N gegen A_{1b}	++	+	+	0		
J gegen A_{2a}	++	+	±	0		
N gegen A_{2a}	++	+	+	0		
J gegen A_{2b}	++	+	+	0		
N gegen A_{2b}	++	+	+	±	0	
J gegen A_3	++[1]	+[2]	0			
N gegen A_3	++[1]	+[2]	+[3]	0		

[1]) Niederschlag löst sich beim Schütteln.

[2]) An der Trennungsschicht entsteht unten Ring, darüber bleibt klare Zone; nach ½ Std. sind Ring und lytische Zone verschwunden.

[3]) Es ist schwacher, aber deutlicher weißer Ring gebildet worden; nach 30 Min. ist weder Ring noch Niederschlag zu sehen.

Versuch 4: Reis und Unterlage getrennt am 20. 6., Reaktionen am 22. 6. J = ganzes Reis. N = 3 ganze Seitensprosse der Mutterpflanze. A = Freilandtomate, Blätter und Stengelteile mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1a}	++	+	+	0	
N gegen A_{1a}	++	+	±	0	
J gegen A_{1b}	++	+	+	0	
N gegen A_{1b}	++	+	+	0	
J gegen A_{2a}	++	+	±	0	
N gegen A_{2a}	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	+	+	0	
N gegen A_{2b}	++	+	+	±	0

Versuch 5: Reis und Unterlage getrennt am 21. 6., Reaktionen am 24. 6. J = ganzes Reis. N = 2 Seitensprosse der Mutterpflanze des Reises. A_1 = normale Tomate; Blätter und Stengelteile mittleren Alters. A_2 = Steckling, von der Unterlage stammend, ohne unterste Blätter, Gipfel und jüngste Blätter.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1a}	++	+	0		
N gegen A_{1a}	++	+	+	0	
J gegen A_{1b}	++	+	+	0	
N gegen A_{1b}	++	+	+	0	
J gegen A_{2a}	++	+	±	0	
N gegen A_{2a}	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	++	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	++	+	±	0

Versuch 6: Reis und Unterlage getrennt am 25. 6., Reaktionen am 28. 6. J = ganzes Reis. N = 2 Seitensprosse von der Mutterpflanze des Reises. A_1 = Steckling, von der Unterlage stammend, mit Ausschluß älterer Teile und der Spitze; A_2 = normale Pflanze; Blätter und entsprechender Stengelteil mittleren Alters.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1b}	++	+	±	0	
N gegen A_{1b}	++	+	±	0	
J gegen A_{2a}	++	+	+	0	
N gegen A_{2a}	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	+	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	+	+	±	0

Versuch 7: Reis und Unterlage getrennt am 5. 8., Reaktionen am 9. 8. J = Blätter und dazugehöriges Stengelstück, mit Ausschluß des untersten Teiles und der Spitze. N = etwa gleichgroße Rute von der Mutterpflanze; dem Reis entsprechendes Material. A = Steckling, von der Unterlage stammend, mit Ausschluß des untersten Stengelstückes, der älteren Blätter und des Gipfels.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1a}	++	+	+	0	
N gegen A_{1a}	++	+	+	0	
J gegen A_{1b}	++	+	+	±	0
N gegen A_{1b}	++	+	+	+	0
J gegen A_{2a}	++	+	±	0	
N gegen A_{2a}	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	+	+	0	
N gegen A_{2b}	++	+	+	+	0

Versuch 8: Reis von Unterlage getrennt am 8. 8., Reaktionen am 11. 8. J = Reis ohne unteren Teil und Spitze. N = ebensolche Rute von der Mutterpflanze des Reises. A_1 und A_2 = Teile mittleren Alters von Freilandpflanze. A_3 = Preßsaft von Steckling, der Unterlage entstammend, ohne ältere und jüngste Teile.

	Verdünnungen der Antigene				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
J gegen A_{1a}	++	+	±	0	
N gegen A_{1a}	++	+	+	0	
J gegen A_{1b}	++	+	+	0	
N gegen A_{1b}	++	+	+	0	
J gegen A_{2a}	++	+	+	0	
N gegen A_{2a}	++	+	+	0	
J gegen A_{2b}	++	+	+	±	0
N gegen A_{2b}	++	+	+	±	0
J gegen A_3	++[1]	+[2]	+[2]	0	
N gegen A_3	++[1]	+[2]	+[2]	0	

[1]) Kein scharfer Ring, Schlierenbildung, Niederschlag löst sich beim Schütteln.
[2]) Ring ist nur unmittelbar nach dem Überschichten sichtbar; Gläschen bleiben nach Umschütteln klar.

Versuch 9: Reis und Unterlage getrennt am 10. 8., Reaktionen am 12. 8. J = Reis ohne Spitze und älteste Teile. N = Seitensproß der Mutterpflanze des Reises; davon entsprechende Teile wie beim Reis. A_1 und A_2 = Steckling, der Unterlage entstammend, ohne Gipfel und unterste Teile.

	Verdünnungen von J und N			
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
A_{1a} gegen J	++	+	0	
A_{1a} gegen N	++	+	0	
A_{1b} gegen J	++	+	0	
A_{1b} gegen N	++	+	±	0
A_{2a} gegen J	++	+	0	
A_{2a} gegen N	++	+	0	
A_{2b} gegen J	++	+	±	0
A_{2b} gegen N	++	+	±	0

Versuch 10: Reis von Unterlage getrennt am 13. 8., Reaktionen am 16. 8. J = Reis ohne jüngste und älteste Teile. N = 2 Ruten von Mutterpflanze, ohne Spitzen. A_1 und A_2 = Freilandpflanze ohne ältere und jüngste Teile. A_3 = Preßsaft aus Steckling, von der Unterlage stammend, Blätter und dazugehöriges Stengelstück mittleren Alters.

	Verdünnungen von J und N			
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
A_{1a} gegen J	++	+	0	
A_{1a} gegen N	++	+	0	
A_{1b} gegen J	++	+	±	0
A_{1b} gegen N	++	+	±	0
A_{2a} gegen J	++	+	±	0
A_{2a} gegen N	++	+	±	0
A_{2b} gegen J	++	+	±	0
A_{2b} gegen N	++	+	±	0
A_3 gegen J	++ [1])	+ [2])	0	
A_3 gegen N	++ [1])	+ [2])	0	

[1]) Flockiger Niederschlag, löst sich beim Schütteln.

[2]) Ring sofort aufgetreten, darüber klare Zone; nach 30 Min. ist Präzipitat und lytischer Ring verschwunden.

Versuch 11: Reis und Unterlage getrennt am 18. 8.. Reaktionen am 19. 8. J = Reis ohne älteste Teile und Spitze. N = 2 Seitensprosse der Mutterpflanze des Reises, entsprechende Teile wie zu J. A_1 = Freilandpflanze, Blätter und entsprechendes Stengelstück mittleren Alters. A_2 = Steckling, von der Unterlage stammend, ohne älteste und jüngste Teile. A_3 = Preßsaft von Freilandpflanze; jüngere, aber ausgewachsene Blätter und das dazugehörige Stengelstück.

	Verdünnungen von J und N				
	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 60
A_{1a} gegen J	++	+	±	0	
A_{1a} gegen N	++	+	±	0	
A_{1b} gegen J	++	+	+	0	
A_{1b} gegen N	++	+	+	±	0
A_{2a} gegen J	++	+	±	0	
A_{2a} gegen N	++	+	+	±	0
A_{2b} gegen J	++	+	+	0	
A_{2b} gegen N	++	+	+	±	0
A_3 gegen J	++ [1])	+ [2])	0		
A_3 gegen N	++ [1])	+ [2])	0		

[1]) Schlierenbildung; Niederschlag löst sich beim Schütteln.

[2]) Sofort eintretende Ringbildung, nach 30 Min. kein Ring mehr, dafür hellere Zone.

Auch die mit dem Pfropfpaar Lycium barbarum-Sol. lycopersici angestellten Versuche führten nicht zu einer Bestätigung der Angaben Kostoffs, da das Präzipitationsvermögen in den Kontrollreihen ebenso stark war wie in den Immunreihen. Mit unseren Resultaten gleichlautend ist das Ergebnis Silberschmidts (a. a. O., II, S. 573), das sich für unser Pfropfpaar allerdings nur auf einen einzigen Versuch stützt und ebenfalls keine Unterlagen zur Annahme von Antikörperbildung infolge der Pfropfung liefert.

Für das gegenteilige Ergebnis Kostoffs eine Erklärung zu finden, scheint im vorliegenden Falle, wo mit einem Ablesefehler nicht gerechnet werden kann, kaum möglich zu sein, außer man nimmt an, daß die Vorbehandlung der Kontroll- und Immunlösungen verschieden war. Daß man auf diese Weise leicht positiv erscheinende Reaktionen erhalten kann, ist mehrfach gezeigt worden. Erwähnt sei in diesem Zusammenhang noch, daß mehrmals wiederholte Versuche, zu denen beide Reagenden nach der S. 116 angegebenen Methode hergestellt worden waren, in allen Fällen die Reaktion 0 gaben.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

I. Die vorliegende Arbeit, die sich in den Rahmen unserer Untersuchungen über das Vorkommen einer aktiven Immunität der Pflanze gegenüber ihren Parasiten einfügt, hatte zum Ziele, die von Kostoff 1929 veröffentlichten Ergebnisse über Antikörperbildung als Folge einer Pfropfverbindung art- und gattungsverschiedener Solanaceen nachzuprüfen und etwa zu erweitern. Bei dem rein empirischen Charakter dieser Befunde hielten wir es fürs erste als notwendig, die Angaben Kostoffs weitmöglichst einzuhalten. Es gelang, die Befunde Kostoffs, soweit sie das Präzipitationsvermögen der dargestellten Extrakte selbst betreffen, grundsätzlich zu bestätigen. Was aber den Kernpunkt des Problems angeht, nämlich erhöhte Präzipitation bei Extrakten aus den aufgepfropften Reisern und somit die Mitwirkung von im Verlauf der Pfropfsymbiose entstandenen Antikörpern am Ausfall der Reaktion nachzuweisen, so konnten bei Berücksichtigung der notwendigen Kontrollen die Angaben Kostoffs keine Bestätigung finden.

Als Gründe, aus denen heraus die von den unseren abweichend und positiv erscheinenden Ergebnisse Kostoffs zu erklären sind, kommen sehr wahrscheinlich die von Kostoff geübte, nicht einwandfreie Ablesemethode und der Mangel entsprechender Kontrollreaktionen in Betracht. Kostoff hat den Ausfall seiner Reaktionen fast ausschließlich nach Größe und Dichte des in unverdünnten Extrakten auftretenden Ringes beurteilt. Ein derartiges Verfahren ist als nicht genügend objektiv zu bezeichnen, weil bei den abzuschätzenden geringen Niederschlagsmengen und -differenzen der persönliche Ablesefehler ins Gewicht fallen muß und das um so mehr, als die zu vergleichenden einzelnen Reaktionen oft zu verschiedenen Zeiten angestellt wurden.

Über das Alter bzw. den physiologischen Zustand des zur Extraktion kommenden Materials macht Kostoff keine näheren Angaben; es hat sich aber aus unseren Versuchen eindeutig ergeben, daß davon das Präzipitationsvermögen sowohl der Antigen- und Immunlösungen abhängt, indem Extrakte aus physiologisch jüngeren Pflanzenteilen stets in stärkerer Verdünnung noch Ringe ergaben als solche aus älteren oder eiweißarmen Pflanzen-

teilen, eine Tatsache, die Kostoff besonders nach den auf S. 126 wiedergegebenen Ausführungen nicht berücksichtigt hat.

II. Im weiteren Verfolg des von Kostoff zuerst geäußerten Gedankens, daß Antikörper auf dem Wege der Pfropfung gebildet und mittels der Präzipitinreaktion nachweisbar werden könnten, sind weitere Versuche zur Erzielung einwandfreier Reaktionen angestellt worden.

Dazu fanden einmal reine Preßsäfte Verwendung. Derartige inhomogene Gemische erwiesen sich aber aus verschiedenen Gründen nicht brauchbar. Unsere Erfahrungen werden durch die Ergebnisse Silberschmidts bestätigt, der fast ausschließlich solche Preßsäfte zu seinen Reaktionen benützt und ebenfalls nur negative Resultate erzielt hat.

In einer zweiten Reihe unserer Versuche sind als Normal- bzw. Immunserum ebenfalls reine Preßsäfte benützt worden, während die Antigenlösungen nach verschiedenen Methoden hergestellt wurden. Die Kombination dieser verschiedenen Extrakte bzw. Säfte bot zwar den großen Vorteil, daß bei der Uhlenhuthschen Methode die Trennungsschicht länger bestehen blieb und Ringbildung leichter beobachtet werden konnte als bei Verwendung von gleichartigen Lösungen, lieferte aber ebenfalls keine Unterlagen für eine Beteiligung von Antikörpern an dem Ausfall der Reaktionen. Normal- und Immunseren zeigten unter Einhaltung der notwendigen Vorsichtsmaßregeln und unter Berücksichtigung der möglichen Schwankungen stets gleiche Reichweite und gleiches Fällungsvermögen.

III. Was das Fällungsvermögen der zur Anwendung gekommenen Lösungen selbst betrifft, so konnte festgestellt werden, daß es von dem physiologischen Zustand des Pflanzenmaterials, von dessen Vorbehandlung und schließlich dem verwendeten Lösungsmittel abhängt. Als maßgeblich am Reaktionserfolg beteiligt sind mit großer Wahrscheinlichkeit Eiweißstoffe und Pigmente oder diesen ähnliche Substanzen anzunehmen.

Bei Mitteilung der einzelnen Versuche konnte mehrfach darauf hingewiesen werden, daß man bei nicht genügender Rücksichtnahme auf diese Faktoren und Vernachlässigung der notwendigen Kontrollen zu Resultaten kommen kann, die eine Mitwirkung von Antikörpern bei dem Präzipitationserfolg vortäuschen, in Wirklichkeit aber den Ausdruck unspezifischen Reaktionsvermögens der Lösungen darstellen.

Schlußbemerkung.

Wenn nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen den Anschauungen Kostoffs, daß bei Pfropfsymbiose art- und gattungsverschiedener Solanaceen Antikörper gebildet werden und Präzipitine die Ursache für die Entstehung von Tumoren und Mißbildungen bei Solanaceenbastarden sind[1]), die experimentelle Grundlage fehlt, so darf aus dieser Feststellung keineswegs die allgemeine Ablehnung einer aktiven, auch in vitro in irgendeiner Form nachweisbaren Immunität gefolgert werden. Die Schwierigkeit, einen exakten Nachweis hierfür zu erbringen, liegt nach unseren mit Bakterien und Pilzen gewonnenen Erfahrungen vor allem darin, daß es sich bei den Abwehrmaßnahmen des pflanzlichen Organismus nicht um eine Mitwirkung von zirkulierenden und auf weite Entfernungen hin wirksamen Stoffen handelt,

[1]) D. Kostoff, Tumors and other Malformations on Certain Nicotiana hybrids. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 81. 1930. S. 244—259.)

sondern daß die Bildung dieser Substanzen nur lokal und in geringem Maße erfolgt und stets von Lebensäußerungen der Pflanze begleitet wird, die unspezifisch sind. Da außerdem die Pflanze, soviel aus allen bisherigen Untersuchungen über Immunitätserscheinungen hervorgeht, schon an sich kein so empfindliches Reaktionsvermögen wie das Tier besitzt, ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die art- und gattungsfremden Stoffe, falls ihnen überhaupt Antigencharakter zukommt, nicht derart verschieden sind, um in der Pflanze bei Pfropfsymbiose Antikörperbildung hervorrufen zu können.

Beobachtungen an Bakterien-Geißeln.

Von **K. John**, Jena.

Einige von mir an Bakteriengeißeln gemachte Beobachtungen scheinen mir wertvoll genug zu sein, um ihre Veröffentlichung zu rechtfertigen. Sie sind gewonnen worden an spärlich begeißelten Arten, vor allem Bact. coli (communis), das jederzeit leicht erhältlich ist und mit seiner geringen Geißelzahl ein übersichtliches Bild darbietet. Solche Bakterien wurden sowohl direkt aus Stuhl, als auch, in wenigen Fällen, aus Bouillonkultur entnommen, da sie in Gelatinekulturen keine Eigenbewegung aufweisen.

Die Untersuchung erfolgte im Dunkelfeld (großer Dunkelfeldkondensor n. A. 1,4 von Leitz, Wetzlar) mit der Immersion unter Verwendung direkten Sonnenlichtes, das die Arbeit etwas unbequem macht, aber in optischer Hinsicht, wenigstens in vorliegendem Falle, günstiger ist als selbst die Bogenlampe. Da es sich darum handelte, die Bakterienindividuen möglichst lange im Gesichtsfeld zu behalten, wurde folgender Kunstgriff angewandt. Ein Glasstäbchen wurde in der Flamme des Bunsenbrenners erweicht und sodann rasch äußerst fein ausgezogen. Kurze Bruchstücke der dünnsten Stelle (man läßt sie, der besseren Sichtbarkeit halber, am besten auf schwarzes Glas fallen) werden unter Zuhilfenahme einer glühenden Nadel spitzwinklig gebogen, das gelingt, bei einiger Sorgfalt, ganz leicht. Diese Winkelstücke gelangen nun in die Flüssigkeitsschicht unter dem Deckglas, die die Bakterien enthält; aus dem Umstand, daß mit dem Dunkelfeldkondensor und der Immersion gearbeitet wird, ergibt sich, daß nur dünnste Glasfäden Verwendung finden können. Wird nun die Zusatzflüssigkeit (s. unten!) so am Deckglasrand aufgebracht, daß der Zusatzstelle der geschlossene Winkel des Glasfadens gegenüberliegt, so bleibt der innere Winkel des letzteren von Strömungen ziemlich frei, so daß die Bakterien innerhalb desselben ziemlich unbeeinflußt bleiben, außerdem erfolgt hier die Vermischung der beiden Flüssigkeiten in der erwünscht langsamen Weise. Auf diese Art ist die Beobachtung verhältnismäßig leicht.

Setzt man am Deckglasrand, nachdem die Einstellung von Kondensor und Beobachtungssystem sorgfältig erfolgt ist, einen kleinen Tropfen einer verdünnten Säure, z. B. Eisessig 1 : 100 zu, so ist zu bemerken, daß die bisher sichtbar gewesenen Geißeln der Bakterien, wenn die Vermischung der Untersuchungs- und der Zusatzflüssigkeit begonnen hat, nach und nach verschwinden. Es ist aber nicht so, daß die Geißeln einfach abgeworfen würden, sondern

allem Anschein nach werden sie in den Bakterienleib zurückgezogen. Würden sie einfach abgeworfen, so müßten sie sich im mikroskopischen Bilde wiederfinden, das ist aber nicht der Fall. Ich dachte zunächst an eine Auflösung derselben, es scheint aber auch so nicht zu sein, denn bei aufmerksamer Beobachtung ergibt sich, daß, wenn die Geißeln um etwa die Hälfte kürzer geworden sind, sich an der Stelle, wo sie dem Leib der Bakterien aufsitzen, eine gut wahrnehmbare Einstülpung bildet, die sich im mikroskopischen Bilde als deutlicher, heller Punkt darbietet. Dieser Punkt vergrößert sich in dem Maße, als die Geißel reduziert wird, es scheint also tatsächlich so zu sein, daß, auf chemischen Reiz hin, die Geißeln in den Leib der Bakterien retrahiert werden. Das Bakterium wird unbeweglich, d. h. es folgt, wenn die Vermischung von Beobachtungs- und Zusatzflüssigkeit beendet ist, nur noch schwerfällig den Molekularstößen.

Diese Beobachtungen dürften eine Bestätigung der Ansicht Arthur Meyers[1]) sein, nach der die Geißeln nicht als ektoplasmatische, sondern als alloplasmatische Organe der Bakterienzelle anzusehen sind.

Die Erscheinung tritt auch auf Zusatz von Mineralsäuren, HCl, H_2SO_4 usw. ein; es ist aber leider kaum möglich anzugeben, bei welcher Verdünnung die Einziehung der Geißeln erfolgt; soviel scheint mir aber sicher, daß der Erfolg des Versuches bereits bemerkbar ist, ehe das Bakterium abgestorben ist.

Zusammenfassung.

Bei unter bestimmten Verhältnissen angestellten Untersuchungen an Bakteriengeißeln im Dunkelfeld hat sich gezeigt, daß, bei Zusatz verdünnter Säuren, die Geißeln bestimmte Wandlungen durchmachen insofern, als es den Anschein hat, als würden sie auf den chemischen Reiz hin vom Bakterienleib aufgenommen, wobei die Insertionsstelle der Geißel sichtbar wird und sich, nach Maßgabe der Schrumpfung der Geißel, vergrößert.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Bericht der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Gartenbau in Weihenstephan für die Jahre 1929 mit 1930. (Sonderabdruck a. d. Landwirtsch. Jahrb. f. Bayern. Jahrg. 21. 1931. Nr. 5—7.)

Aus dem sehr inhaltreichen Bericht seien hier nur einige Versuche über Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten angeführt. Cladosporium fulvum auf Tomaten ließ sich durch 4malige Anwendung von 1proz. Solbarlösung, 0,5proz. Kupferkalkbrühe, 0,5proz. Kupferkalk-Wacker, 0,3proz. Sodalösung, 0,5proz. Kochsalzlösung nicht unterdrücken. Stirling Castle zeigte sich nur sehr wenig anfällig. Gegen Fusicladium am Apfelbaum erwies sich die Kupferkalkbrühe der Schwefelkalkbrühe in fast allen Fällen deutlich überlegen, obwohl manche Sorten mit glatter Schale durch Kupferbrühe leicht Schädigungen erlitten, z. B. bei Landsberger Renette, Aderslebener Calvill, Boikenapfel. Die Blätter wurden besonders bei Landsberger Renette, Baumanns Renette, Wintergoldparmäne geschädigt. Trotz der besseren Wirkung der Kupferkalkbrühe sollte der Schwefelkalkbrühe in

[1]) Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena (Gust. Fischer) 1912.

Zukunft der Vorzug gegeben werden. Nur unerheblich fusicladiumanfällig zeigten sich: Apfel von Croncels, Fraas Sommerkalvill, Goldrenette von Blenheim, Großherzog Friedrich von Baden, Jakob Lebel, Keswiker Küchenapfel, Königinapfel, Manks Codlin, Parkers Pepping, Schöner von Boskoop. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Voigt, A., Wuchsformen höherer Pflanzen mit besonderer Berücksichtigung der Stauden. (Wissenschaft und Technik des Gartenbau, Heft 4.) Neudamm (J. Neumann) 1932. 62 S. 2.50 RM.

Verf. will in die große Mannigfaltigkeit pflanzlicher Wuchsformen eine bessere Ordnung und Übersicht zu bringen versuchen, wobei er sich auf die höheren Pflanzen beschränkt, unter denen er Farn- und Samenpflanzen verstanden wissen will. Die bisher häufig entstandenen Widersprüche führt er zum Teil auf die nicht gleichsinnige Anwendung mancher Fachwörter und Begriffe zurück, die er deswegen genau umschreibt. Allerdings gelangt er hierbei zu manchen, zunächst vielleicht etwas kühn anmutenden Wortbildungen, so wenn er im Gegensatz zu den Wanderpflanzen von „Sassenpflanzen“ spricht. Er bildet dann insgesamt 8 Wuchsformabteilungen, die unter den verschiedensten Gesichtspunkten zusammengefaßt werden und im ersten Abschnitt näher gekennzeichnet werden. In den übrigen 5 Abschnitten, die sich fast ausschließlich mit den Stauden beschäftigen, werden Gruppierungen der Wuchsformen innerhalb verschiedener Entwicklungsabschnitte vorgenommen, und zwar werden nacheinander das Wurzelwerk, das Laub, die Sproßverknüpfung, die Knospenlagerung und die Speicherung besprochen. Die Verhältnisse werden im einzelnen an einer großen Reihe von Beispielen erläutert. Braun (Berlin-Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Kendall, A. J., Züchtung von Bakterien in filtrierbarem Zustand. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 337—341.)

Verf. ist es angeblich gelungen, eine ganze Reihe verschiedener Bakterienarten (Streptokokken, Bact. alcaligenes, coli, typhi, paratyphi B, proteus, proteus X_{19}) unter Verwendung eines relativ eiweißreichen und peptonarmen Nährbodens leicht und schnell in den filtrierbaren Zustand überzuführen. Das betreffende Nährmedium, dessen Herstellung genau beschrieben wird, enthält als wichtigste Substanz extrahierten Schweinedarm. Die filtrierbare Form ließ sich mehrere Monate lang erhalten und weiterimpfen. Die Rückgewinnung der nichtfiltrierbaren Bakterien war mit gewissen Schwierigkeiten verbunden. Die ersten auf Agar wieder auftretenden Wachstumsbildungen waren von schleierartigem Charakter, die Bakterien in ihrer Morphologie unregelmäßig und chemisch relativ träge. Es schien, daß die Organismen sich im filtrierbaren Zustand an ihr Eiweißmilieu gewöhnt hatten, also „proteophil“ geworden waren. — Durch das obige Verfahren konnte nachgewiesen werden, daß hochwirksame Phagen mitunter noch filtrierbare Formen enthalten können, die in typische Bakterien überführbar sind. Rodenkirchen (Duisburg).

Cuboni, E., Methode pour la préparation de cultures de collection. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Italiana. Vol. 5. 1933. p. 21—23.)

Das Verfahren, eine Bakterienkultur, etwa einem Ausstrich auf Schrägröhrchen, zu konservieren, besteht darin, daß man dieses Röhrchen so weit, wie der schräg erstarrte Nährboden reicht, mit Formolgelatine gänzlich füllt, wodurch der Ausstrich in Form und Farbe unverändert haltbar wird und durch die völlig klare Formolgelatine betrachtet werden kann. Formolgelatine wird folgendermaßen hergestellt: 1. Im Wasserbad 100 g Gelatine in 1000 ccm Wasser auflösen. 2. 500—1000 g Glyzerin zufügen. 3. Dazu ein Eiweiß, zu Schnee geschlagen. 4. Im Autoklaven bis 120° C erhitzen. 5. Heiß filtrieren. 6. 5 ccm Phenol (1%) zufügen. 7. Kurz vor der Verwendung im Wasserbad verflüssigen und mit 5% käuflichem Formol versetzen. Die Gelatine wird vorsichtig in das Kulturröhrchen eingegossen, damit der Ausstrich nicht beschädigt und keine Luftblase eingeschlossen wird. Nachdem auf die erstarrte Gelatine einige Tropfen Formol geträufelt worden sind, wird das Röhrchen luftdicht verschlossen, wofür Verf. auch noch eine besondere Kittmasse angibt. Bortels (Berlin-Dahlem).

Rippel, Karl, Saugkraftmessungen an Sporen von Cladosporium fulvum Cooke und anderen Pilzen und Grundsätzliches zur Methodik der Saugkraftmessungen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 220—228.)

Das Saugkraftmaximum entspricht der Grenzplasmolyse und ist nur mikroskopisch festzustellen. Es können aber keine absoluten Werte in Atmosphären angegeben werden, da das Verhältnis der Sporen- bzw. Zellenzahl zur Flüssigkeit sehr bedeutsam ist. Das Keimkraftmaximum ist die Kraft, die zur Keimung aufgewendet wird. Es läßt sich in verdünnter Rohrzuckerlösung, aber auch in reinem Wasser feststellen als Keimungsgeschwindigkeit.

Eine in Verbindung mit Cladosporium fulvum auf Tomaten gefundene Botrytis spec. hatte diesem Pilz gegenüber eine ganz besonders hohe Saugkraft, weshalb es möglich erscheint, daß in der Natur auf diesen Pilz parasitiert. Die Saugkraft ist auch wentlich höher als die vom Cladosporium herbarum und deutlich höher als die von Botrytis cinerea. Ob die besonders hohe Saugkraft der beiden Botrytis-Arten eine allgemeine Eigenschaft dieser Gattung ist, kann noch nicht entschieden werden.

Die vom Verf. früher festgestellte stärkere Resistenz der Sporen von Cl. fulvum der fungiziden Wirkung des Kochsalzes gegenüber, verglichen mit den anderen erwähnten Pilzen, ist lediglich durch die geringe Saugkraft dieses Pilzes vorgetäuscht. Rippel (Göttingen).

Dickinson, S., The technique of isolation in microbiology. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 357—367, 3 figs.)

Verf. bringt eine Beschreibung der wichtigsten Methoden für die Isolierung von Einzelzellen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Konrich, F., Über einzeitige Sterilisation von Gelatinenährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 158—160.)

An Stelle der fraktionierten Sterilisation kann die einmalige Sterilisierung im Autoklav bei 120° angewandt werden. Die Konsistenz der Gelatine leidet nicht merklich, wenn die Temperatur von 120° nur 10 Min. ein-

wirkt und hernach die Temperatur des Autoklaven durch mäßiges Öffnen des Lufthahnes in etwa 15 Min. auf 100° absinkt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Lieb, L., Über Untersuchungsmethoden von Kapselbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 233—237.)

Es wird gezeigt, wie bei biochemischer Untersuchung der Kapselbakterien verschiedene Arbeitsmethodik das Ergebnis beeinflußt. Es wird deshalb für unbedingt nötig erachtet, eine bestimmte Methodik zu gebrauchen. Alles Nähere über die Zusammensetzung der benötigten Nährböden im Original.

Rodenkirchen (Duisburg).

Plewako, E. A. und Altowskaja, N. I., Die Nutzbarmachung der Pentosen durch den Hefepilz Oospora Nr. 208. (Schrift d. Zentr. Biochem. Forschungsinst. d. Nähr- u. Genußmittelind. Bd. 2. H. 5. 1932. S. 212—219.) [Russich.]

3 Stämme der von Algen isolierten Hefepilze greifen Pentose an. Die günstigsten Ergebnisse zeigte Oospora Nr. 208, die 40—99% Xylose zusetzt unter Bildung von Alkohol, CO_2, Säure und Glyzerin. Bei Temp. 20—30° ist die Entwicklung der Pilzmasse sehr stark, während die Alkohol- und Glyzerinmenge infolge weiterer Zusetzung derselben abnimmt. Bei 33—35° steigt der Alkohol- und Glyzeringehalt.

Unter anaeroben Bedingungen bildet sich bis 10% Alkohol und 10% Glyzerin. Beim Durchlüften wird starke Entwicklung des Pilzes und reichliche CO_2-Bildung beobachtet, während der Säure-, Alkohol- und Glyzeringehalt nur gering ist.

Der physiologische Zustand des Pilzes, die Menge der Pilzkultur und das Verhältnis der in dieser Masse enthaltenen runden Zellenformen und Myzelienelemente hat Einfluß auf den Verlauf des Prozesses.

A. Imšenecki (Leningrad).

Jakobsohn, K. P., Über die biochemische Hydratisierung der Fumarsäure durch pflanzliche Zellen und Hefe. (Biochem. Ztschr. Bd. 234. 1931. S. 401—418.)

Der oxydative Abbau der einfachen Bausteine der Kohlenhydrate, Fettsäuren und Proteine der Nahrung findet im Tierkörper grundsätzlich auf demselben Wege statt. Der Abbau verläuft stets über Essigsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Oxalessigsäure zu Brenztraubensäure bzw. Acetaldehyd. Die einzelnen Stadien dieses Weges sind von verschiedenen Forschern weitgehend experimentell geklärt worden. Nur der erste Schritt von der Essigsäure zur Bernsteinsäure war mit tierischem Gewebe bisher nicht bewiesen worden. Dagegen waren sowohl Bernsteinsäure als auch Fumarsäure schon öfters im Stoffwechsel verschiedener Pilze und Bakterien beobachtet worden. Verf. bemühte sich, nachzuweisen, daß bei höheren Pflanzen und bei Hefen der Stoffumsatz in ähnlichen Bahnen verläuft wie im Tierkörper. Fumarsäure und Äpfelsäure wurden bei 37° C mehrere Tage hindurch der Einwirkung verschiedenerAceton-Dauerpräparate sowie frischer Säfte von Erbsen, Bohnen und Hefen ausgesetzt. Es stellte sich stets ein Gleichgewicht zwischen 20—40% Fumarsäure und 60—80% Äpfelsäure (als Fumarsäure berechnet) ein.

R. Koch (Berlin).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Krzemieniewska, H. (Lwów), Le cycle évolutif de Spirochaeta cytophaga Hutchinson et Clayton. [Über den Entwicklungszyklus der Spirochaeta cytophaga Hutchinson und Clayton.] (Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 7. 1930/31. p. 507—519.)

Die vegetativen Formen der Spirochaeta cytophaga Hutchinson und Clayton besitzen die Gestalt eines geraden oder leicht gebogenen Stäbchens, oder eine „S"-Form mit verjüngten Enden. Sie färben sich entweder gar nicht oder nur schwierig mit normalen Bakterienfarbstoffen. Gute Ergebnisse gibt die Färbung mit Erythrosin oder mittels Giemsa's Methode. Das Stäbchen färbt sich, die Spitzen bleiben ungefärbt. Wenn die Zelle zu altern beginnt, häuft sich das Chromatin in der Mitte des Stäbchens an, bildet ein Band, manchmal 3—4 Körner. Infolgedessen zieht sich das Stäbchen zusammen, nimmt eine ovale, endlich eine runde Form an, das Chromatin ballt sich zusammen, die Zelle umringt sich mit einer Scheide. Dieses durch Zusammenziehung entstandene Endstadium nennt die Verf.n eine Mikrozyste. Vor dem Keimen der Mikrozyste wächst das Volumen des Chromatins, welch' letztes sich jetzt scharf von dem ungefärbten Rest der Zelle abhebt. Die Scheide trennt sich auf einer Seite von der Zelle, auf der anderen verschwindet sie gänzlich. Die von der Scheide befreite Zelle nimmt eine ovale Form an, dann verlängert sie sich, bis sie die normale Länge, mit abgerundeten Enden, erlangt. Manchmal, jedoch sehr selten, trifft man verzweigte Stäbchen, welche jedoch nichts mit der Verzweigung bei den Aktinomyzeten gemein haben. Das Chromatin ist in jungen Stäbchen sehr unregelmäßig verteilt. Die Beobachtungen der Verf.n bestätigen die schon von Hutchinson und Clayton erwähnte Besonderheit in der Entwicklung der Spirochaeta cytophaga und die Ähnlichkeit mit der Entwicklung der Gattung Myxococcus der Myxobakterien.

Konieczny (Kraków).

Rippel, August und Flehmig, T., Untersuchungen über den aeroben Cellulosezersetzer Itersonia ferruginea. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 229—236.)

Als Itersonia ferruginea bezeichnen die Verff. einen aeroben zellulosezersetzenden Mikroroganismus, der mancherlei Ähnlichkeit mit Myxobakterien aufweist, und den sie deshalb auch einstweilen zu einer Gruppe der Hemimyxobacteria den Eumyxobacteria gegenüberstellen. Es sind unbewegliche Stäbchen von 0,4—0,5 μ Breite und 1,6—1,8 μ Länge und Kokken von 1,2—1,3 μ Durchmesser. Daß beide Formen zusammengehören, konnte, abgesehen davon, daß sie durch keinerlei Einwirkungen (Temperatur, Gifte usw.) zu trennen waren, durch Isolierungen mit dem Mikromanipulator bewiesen werden. Die Stäbchen sind das Jugend-, die Kokken das Altersstadium. In vieler Hinsicht besteht Ähnlichkeit mit dem von Hutchinson-Clayton beschriebenen Organismus, nur sind die vorliegenden Stäbchen kleiner und gerade. Weitere Untersuchungen müssen in diese noch kaum bekannten Gruppen von Zellulosezersetzern Klarheit bringen.

Es handelt sich um einen echten, auf keinem anderen Substrat gedeihenden Cellulosezersetzer. Nur auf Pepton erfolgt Wachstum, das jedoch

nach 4—5 Überimpfungen eingestellt wird. Im übrigen sieht er dort normal aus. Bei Zusatz von 0,05% Zucker wurde das Wachstum auf Zellulose eingestellt. Als N-Quelle eignen sich Harnstoffe und Nitrat besonders, Pepton merkwürdigerweise weniger. Die optimale Reaktion liegt bei p_H 6,5—8,0. Gegen Temperatur ist der Organismus äußerst empfindlich: Das Optimum der Entwicklung liegt bei 25—28° C; bei 31° dagegen erfolgt schon kein Wachstum mehr. Auch die Kokken entwickeln sich, trocken auf 35° 5 Minuten erhitzt, nicht mehr. Der Organismus wurde aus 12 von 28 untersuchten Böden isoliert, hauptsächlich fand er sich in Sandböden aus der Lüneburger Heide, in 5 um Göttingen entnommenen Bodenproben keinmal.

Rippel (Göttingen).

Kluyver, A. J. und Reenen, W. J. van, Über Azotobacter agilis. (Beijerinck. Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 280—300.)

In der Literatur wird zwar die von Beijerinck beschriebene Art Azotobacter agilis (so ursprünglich, nicht agile) öfters erwähnt, jedoch scheinen alle Angaben entweder auf den von B. selbst erhaltenen Stamm zurückzugehen, oder es handelte sich offenbar um A. vinelandii. Insbesondere die Abgrenzung gegen diese Art sollte versucht werden. Es gelang mehrfach, agilis-Stämme auf Graben- oder Kanalwasser zu isolieren, niemals aber aus Erde. Bei derartigen Angaben in der Literatur handelt es sich um vinelandii.

Agilis zeichnet sich aus durch größere Durchsichtigkeit der Zellen („Monadenähnlichkeit") und durch die Größe der Zellen. Diese betrug auf Zuckeragar, unter gleichen Bedingungen bei agilis 3,5 μ Durchmesser (es herrschten außerdem meist schön runde Einzelkokken vor), bei chroococcum 2 μ (die Duplozellen sind länglich), während vinelandii noch kleinere Zellen hat. Charakteristisch für agilis ist ferner das schlechte Wachstum auf Mannitplatten. Das vielfach für charakteristisch gehaltene Merkmal eines wasserlöslichen grün-rot fluoreszierenden Farbstoffes trifft für vinelandii zu, nicht für agilis. Auch Beijerinck spricht nur davon, daß dieser ausgebildet werden kann; nur bei der ersten Isolierung der Verff. wurde anfänglich der Farbstoff ausgebildet, bei späteren Versuchen und anderen Stämmen waren die Bedingungen nicht mehr zu verwirklichen.

Die Stickstoffbindung ist kräftig, um 10 mg N je 1 g verbrauchten Zucker; auch bei dieser Form steigert Molybdän die N-Bindung. Die Verff. sprechen agilis eine besondere Bedeutung zu für den Stickstoffhaushalt der Gewässer.

Rippel (Göttingen).

Malcolm, H. S., Microbic dissociation. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Italiana. Vol. 4. 1932. p. 551—559.)

Untersuchungen über Dissoziationserscheinungen bei Bac. pyocyaneus, bei den Erregern bakterieller Ruhr gelegentlich einer Ruhrepidemie und ferner bei vielen anderen nicht pathogenen Bakterien führen Verf. zur Unterscheidung von ganz allgemein 4 verschiedenen Kolonietypen, dem S- (glatt), R- (rauh), M- (mucoid) und P- (phantom [besonders kleine Zellen!]) Typ. Er findet dann, daß diesen verschiedenen Kolonietypen auch verschiedene Formen der Einzelzelle, verschiedene physiologische und biochemische Leistungen sowie auch unterschiedliches serologisches Verhalten und verschiedene Grade der Virulenz eigen sind. Verf. meint sogar, daß die Virulenz eines Bakteriums und was damit im Zusammen-

hang steht, von dem einer Kolonieform entsprechenden Entwicklungsstadium weit mehr abhängig ist als von irgend welchen anderen Faktoren.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Kathe, H., Über besondere Wuchsformen der sogenannten Gelbkeime. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 437—440.)

In 24 stündigen und noch jüngeren Schrägagarkulturen der Gelbkeime, aber auch nur bei dieser Bakterienart, wurden regelmäßig (bes. bei Zimmertemperatur-Züchtung) scharf konturierte, wurst- oder kugelförmige Gebilde beobachtet. Sie sind etwa von der Größe der weißen Blutkörperchen, sehen wie gekörnt aus und kleben im hängenden Tropfen meist unbeweglich am Glase fest. Bei diesen Wuchsformen handelt es sich nach Verf. nicht etwa um durch Reize oder Parasiteneinfluß pathologisch veränderte, vergrößerte einzelne Zellen (atypische Bakterienformen nach Wámoscher), sondern um eine Mehrzahl von Bakterien, die von einer Schleimhülle zu einem festen Verbande zusammengehalten werden. In Anlehnung an die Vorstellungen von Löhnis werden sie als Symplasmen bezeichnet.

Rodenkirchen (Duisburg).

Kruse, W., Veränderlichkeit und Formenwechsel bei Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 1—6.)

Verf. wendet sich gegen die übertriebene Bewertung und gegen die Schematisierung der Veränderlichkeit der Bakterien. Weiter weist er auf Fehlerquellen hin. Er nimmt u. a. an, daß der von Kuhn und Sternberg in Gestalt von gramfesten Kokken bei allen Bakterienarten beobachtete Dimorphismos, der mit dem wirklichen und bei nur wenigen Bakterien sicher beobachteten Dimorphismus nichts zu tun hat, wahrscheinlich durch Verunreinigung der Ausgangskulturen mit dem Strept. lactis verursacht ist. Diese Vermutung stützt sich auf die Feststellung, daß es nicht selten gelingt, aus dem Blut und aus den Organen gesunder Mäuse den Strept. lactis zu züchten. Der von Almquist, Löhnis, Kuhn und Hadley in ihren „Entwicklungszyklus" aufgenommene filtrierbare Zustand wird durch Fehler in den Filtern erklärt. Die Bezeichnung von Gonidien für Granula wird als irreführend abgelehnt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Lesche, K., Die sogenannte Dimorphie der Colibazillen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 7—13.)

Mit dem von Kuhn angegebenen Verfahren wurden in 13 von 42 Fällen aus Colistämmen Kokkenformen gewonnen, die den C-Formen Kuhns entsprechen. Sie erwiesen sich nach ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten als Streptoc. lactis bzw. als Enterokokken. Daß gerade bei Colibazillen so häufig C-Formen gefunden werden, wird damit erklärt, daß die Streptokokken in den Faezes stets neben den Colibazillen vorkommen. Da sie aber auf den üblichen Nährböden weniger gut wachsen als Colibakterien, werden sie bei Ausspatelung auf Platten leicht von den Colibakterien überwuchert und so in deren Kolonien eingeschlossen. Durch Erhitzung oder chemische Einflüsse lassen sie sich infolge ihrer größeren Widerstandskraft leicht von den Colibakterien trennen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Werner, G., Veränderungen der Bakterien durch längeren Aufenthalt im Wasser. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 14—24.)

Durch Aufenthalt im Wasser (Aq. dest.) konnten bei den Bakterien der Coli-Typhus-Ruhr-Gruppe im wesentlichen keine anderen Veränderungen erzielt werden, als sie in alten Kulturen oder durch andere schädigende Einflüsse auftreten. Die durch den Wasseraufenthalt bedingten Veränderungen waren jedoch häufiger, deutlicher und auch beständiger. Sie betrafen Gestalt und Beweglichkeit, Form der Kolonien, Trockenheit, Verschleimung und Verkümmerung derselben, Sektor- und Knopfbildung, Pseudoagglutinations- und Agglutinationsvermögen, Gärvermögen in Milch. Zu den besonders häufigen, bisher aber kaum beschriebenen Veränderungen gehört das Auftreten von Formen, die größte Ähnlichkeit mit fusiformen Stäbchen hatten. Das Vorkommen von Kuhns Pettenkoferien, also von in Bakterienkulturen schmarotzenden Reizformen, konnte nicht bestätigt werden.

Rodenkirchen (Duisburg).

Braulke, H., Form- und Wachstumsveränderungen bei Vibrionen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 25—46.)

Die von Kuhn beschriebenen Pettenkoferien werden als pathologisch veränderte und unter dem Einfluß von Salzen, wie Lithiumchlorid, zu Riesen- und Reizformen herangewachsene Bakterien erklärt. Haben sich die Kulturen (die Versuche wurden mit Vibrionen gemacht) aber an lithiumchloridhaltige Nährböden gewöhnt, so kann ein völlig normales Wachstum erfolgen. Die Rückübertragung solcher Kulturen auf normale Nährböden geht jedoch wieder mit den gleichen Erscheinungen einher wie die vorherige Übertragung auf Lithiumchlorid. — Die Granula sind unfähig zu weiterer Entwicklung und deshalb nicht als Gonidien (Enderlein) aufzufassen. Die sie enthaltenden Kulturen sind auch nicht filtrierbar. Dagegen konnten die Angaben Enderleins, die für eine Art geschlechtlicher Vorgänge sprechen, bis zu einem gewissen Grade an alten Vibrionenkulturen bestätigt werden. Wirkliche Verbindungen oder gar Verschmelzungen wurden allerdings nicht beobachtet. Mit Sicherheit aber nachweisbar war die Längsteilung der Vibrionen. — Es werden schließlich noch Variationen von Vibrionen beschrieben, von denen eine proteusähnliche (schwärmende Kolonien) besonders bemerkenswert ist. — Die C-Formen von Kuhn und Sternberg werden als latente Verunreinigungen der Bakterienkulturen angesehen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Łypacewicz, Julja (Warszawa), Rozkład alkaloidów przez bekterje. [Die Zersetzung der Alkaloide durch Bakterien.] (Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 7. 1930/31. p. 553—581.)

Aus dem Boden, auf welchem Pflanzen wuchsen, die in ihren Geweben Alkaloide enthielten, hat man 11 Bakterienstämme isoliert, die folgende, zum Experiment gebrauchten Alkaloide zersetzen: das Koniin, das Nikotin, das Atropin, das Morphin, das Strychnin und das Chinin.

Als Elektivnährböden hat man Mineralsalzlösungen mit Zusatz von einzelnen Alkaloiden gebraucht. Die Isolierung wurde auf Petrischalen mit normalem Bouillonagar durchgeführt. Von den auf diese Weise isolierten 11 Stämmen entwickelten sich 7 nach wiederholter Impfung in einem flüssigen Mineralnährboden mit Zusatz des entsprechenden Alkaloids. Die

isolierten Bakterien entwickeln sich gut auf solchem Nährboden, was ein Beweis dafür ist, daß das Alkaloid eine gute Kohlenstoff- und Stickstoffquelle für sie darstellt. Die Zersetzungsprodukte der Alkaloide wurden nicht näher untersucht. Die isolierten Bakterien sind sowohl morphologisch, wie auch hinsichtlich ihres Verhaltens auf den Elektivnährboden genau beschrieben worden. Die Verf.n hält sie alle für ganz neue Arten. Ihre Namen sind: Bact. pyrydini n. sp., Bact. atropini n. sp., Bact. strychnini n. sp., Bact. narcotini n. sp., Bact. morphini n. sp., Bact. coniini n. sp., Bact. nicotini n. sp.

Śnieszko (Kraków).

Lebenbaum, M. (Warszawa), O wpływie jonów na świecenie bakteryj. [Über den Einfluß der Ionen auf das Leuchten der Bakterien.] (Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 7. 1930/31. p. 583—597.)

Die Bakterien sind aus einem Flunderfisch in der Nähe der Halbinsel Hel isoliert worden. Es sind unregelmäßige, gewöhnlich gekrümmte, manchmal kokkenähnliche Stäbchen von einer Länge von 1—4 μ. Unter vielen Umständen sind sie dem Bact. phosphoricum (Cohn) Molisch ähnlich. Auf die Entwicklung dieser Bakterien übt die Konzentration der Salze, welche nicht niedriger als 0,5% sein kann, einen großen Einfluß aus. Die Wirkung der Salze ist nicht osmotischer Natur, weil sie sich durch isosmotische Lösungen von Zucker nicht ersetzen läßt. Obwohl die Bakterien aus einer Meeresgegend stammen, in der die Salzkonzentration 0,7% nicht übersteigt, liegt ihr Optimum bei 3,8%, also einer Konzentration, die sich im Ozean vorfindet. Die optimale Leuchttemperatur beträgt 5—15° C. Von den sich im Meerwasser befindenden Salzen übt das Kochsalz den entscheidenden Einfluß aus, dessen Kation eine größere Bedeutung als das Anion besitzt. Mg und K beeinflussen das Leuchten weniger als Na. Eine giftige Wirkung besitzen Ca und SO_4. Der Zusatz von Glukose zum Nährboden wirkt solange stimulierend, bis Säuren im Nährboden auftreten.

Konieczny (Kraków).

Pulley, H. C., Ammonification of nitrogenus substances by pure cultures of microorganisms. (Journ. Agr. Res. Vol. 42. 1931. p. 791—800.)

Elf verschiedene Stickstoffverbindungen (s. u.) wurden auf ihre Abbaufähigkeit zu Ammon hin untersucht. Als Medium diente Erde, die mit 19 verschiedenen Bakterienstämmen beimpft wurde, welche man 4 Tage lang einwirken ließ. Am besten wurde Asparagin ammonifiziert; sodann folgten in abfallender Reihe: Pepton, Glutin, Harnstoff, Casein, Gelatine, Blutmehl, Harnsäure, Hühnereiweiß, Hippursäure, Acetanilid. Nicht angegriffen wurden Kalkstickstoff, Koffein und Diphenylamin. Der Stickstoffkomplex der Purinbasen wurde durch die hier verwendeten Stämme nicht zersetzt; zwei von diesen erwiesen sich als besonders geeignet für den Abbau von Harnstoff und Harnsäure. — In Lösung war die Ammonifikation geringer als in Erde.

Limbach (Leipzig).

Brussoff, A., Über ein kalkspeicherndes Bakterium und die von ihm gebildeten „Kristalle“. (Archiv f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 170—188.)

Im Schlamm der Aachener „Kaiserquelle“ fand Verf. ein von ihm Bacterium Aquisgrani n. sp. genanntes Stäbchen, das in Gelatine-

und Agarkulturen hantel-, semmel- oder kugelförmige kristallinische Gebilde aus kohlensaurem Kalk und organischer Grundsubstanz entstehen läßt, welche durch Umformung von Stäbchen, bei Speicherung von $CaCO_3$ im Innern, gebildet werden. Um diese „Involutionsformen", für die der Verf. den Ausdruck „Bakteriosphärite" oder „Biosphärite" vorschlägt, finden sich Stäbchen, die $CaCO_3$ in der Membran speichern. In flüssiger Kultur und im Schlamm werden kristallinisch aussehende Aggregate gebildet, welche aus $CaCO_3$ in der Membran speichernden Bakterienmassen bestehen. Rippel (Göttingen).

Gutstein, M., Über die p_H-Zahl der Bakterien. (Arch. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 241—247.

Verf. stellte früher schon nach dem Verhalten von Mikroorganismen sauren oder basischen Farbstoffen gegenüber die H-Ionenkonzentration des Zellinnern fest und wirft nun die Frage auf, ob das verschiedene Verhalten Beziehungen zum Gramverhalten ergibt. Verwendet wurden als Indikatoren: Resasurin, Kresolpurpur, Phenolrot, Bromthymolblau, α-Naphtholphthalein, Kresolrot. Das Ergebnis war, daß die meisten Grampositiven ein saures p_H besitzen von 6,1—6,6; B. mesentericus und mycoides jedoch bildeten Ausnahmen mit $p_H > 7,2$. Die meisten Gram-negativen besaßen ein schwach alkalisches p_H von 7,4—7,6; die Vibrionen-Gruppe jedoch hatte ein $p_H > 6,8$ und $< 7,2$. Rippel (Göttingen).

Gutstein, M., Über die Gramspezifität der Desinfektionsvorgänge. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1933. S. 248—256.)

Die Ergebnisse dieser an die vorstehende anschließende Arbeit faßt Verf. folgendermaßen zusammen:

„Die von Eisenberg festgestellte Gramspezifität, d. h. die Elektivität der Wachstumshemmung bzw. der Abtötung in Abhängigkeit vom Gramverhalten der Bakterien, wird auf eine bei beiden Bakteriengruppen verschiedene aktuelle Reaktion im Innern der Zelle zurückgeführt. Insbesondere wird die große Toxizität der basischen Farbstoffe — Substanzen mit Farbstofftypus — auf die Grampositiven auf ein positives p_H-Gefälle zurückgeführt, das das Eindringen der Farbstoffe in die Zelle begünstigt. Dagegen hemmt das negative p_H-Gefälle ihr Eindringen in die Zelle der Gramnegativen, wodurch deren Resistenz erklärt wird. In der gleichen Weise wird das umgekehrte Verhalten der beiden Bakteriengruppen gegenüber den pikrinsauren Salzen — inverser Typus — erklärt, da hier das toxische Anion durch ein positives p_H-Gefälle gehemmt, durch ein negatives, wie bei den Gramnegativen, verstärkt wird. Es wird ferner gezeigt, daß auch bei den Neutralsalzen eine Abhängigkeit des Gramindex, d. h. der verschiedenen Toxizität auf die beiden Bakteriengruppen, von einem toxischen Kation oder Anion nachweisbar ist. Insbesondere verhalten sich im allgemeinen Neutralsalze mit toxischem Kation wie basische Farbstoffe (Gramindex < 1), wogegen Neutralsalze mit giftigem oder giftigeremAnion einen Gramindex > 1 besitzen." Rippel (Göttingen).

Wheaton, I. E., The effect of salt on microorganisms. (Dissertation. Urbana, Illinois. 1933.)

Pilze, pathogene und apathogene Bakterien wurden auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen Salzkonzentrationen untersucht.

Sie ist naturgemäß bei den einzelnen Arten und Zustandsformen verschieden groß. Bortels (Berlin-Dahlem).

Rehm, J. B., The effect of aeration on microorganisms. (Dissertation. Urbana, Illinois. 1933.)

Verf. hat den Einfluß der Durchlüftung auf Wachstum, Vermehrung und Sporenbildung sowie andere Lebensäußerungen verschiedener Bakterien studiert. Bortels (Berlin-Dahlem).

Clark, F. M., The formation of hydrogen sulfide by thermophilic bacteria. (Dissertation. Urbana, Illinois. 1933.)

Thermophile Schwefelwasserstoff-Bildner, besonders Clostridium nigrificans, wurden hinsichtlich ihrer Verbreitung in Böden und Lebensmitteln und ihrer Fähigkeit, aus verschiedenen schwefelhaltigen Substanzen Schwefelwasserstoff zu bilden, untersucht.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Kunzmann, Th., Über die keimschädigende Wirkung von Kaliumjodid und Natriumjodid. I. Mitt. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 114. 1933. S. 623—628.)

Kaliumjodid erwies sich als wesentlich wirksamer als Natriumjodid, und zwar gegen Bact. coli um das 3—5fache, gegen Microc. pyogenes aureus um das 16—600fache. Die Wasserstoffionenkonzentration spielte im Bereich von 6,5—7,5 dabei keine Rolle. Lösungsgemische von Kaliumjodid und Natriumjodid entwickelten verstärkte Wirkung, wenn zwei Komponenten für sich allein bei der gleichen Konzentration der einen Komponente (Jod) keimtötende Wirkung besaßen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Gärtner, St. und Szathmáry, J., Die Resistenz der bestrahlten Bakterien gegenüber Kalilauge. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 78. 1933. S. 249—255.)

Bakteriensuspensionen, insbesondere solche von Vibrionen, hellen sich unter der Wirkung ultravioletter Strahlen auf, die Bakterienkörper werden aufgelöst. Diese Erscheinung verstärkt sich, wenn man der Bestrahlung die Einwirkung von Kalilauge folgen läßt. Nur bei Vibrionen hat sich ergeben, daß nichtbestrahlte Suspensionen durch Kalilauge stärker aufgehellt werden als starkbestrahlte. Dies wird darauf zurückgeführt, daß Vibrionen durch die Bestrahlung Zerfallsprodukte liefern, die mit Lauge einen feindispersen Niederschlag ergeben, der die bakteriell bedingte Trübung der Suspension steigert. Rodenkirchen (Duisburg).

Bohdanowicz, S. und Lawrynowicz, A., De l'action disgénétique de l'urine sur le bacille typhique. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 43—48.)

Durch Züchtung in normalem sterilen Urin können Typhusbakterien ganz ausgesprochene und konstant bleibende Veränderungen ihrer biochemischen, biologischen und antigenen Eigenschaften erfahren. Natürlich ist nicht jeder Urin geeignet und nicht jeder Typhus-Stamm beeinflußbar.

Rodenkirchen (Duisburg).

Sevag, M. G., Über die Beziehungen zwischen enzymatischer Aktivität, Morphologie und Färbbarkeit von Buttersäurebakterien und über den Mecha-

nismus der Restatmung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 114. 1933. S. 756—768.)

Die Buttersäurebazillen sind in der Jugend grampositiv. In diesem Stadium spalten sie Cytochrom, Katalase und andere Enzyme ab, wodurch sich die Zelle allmählich verkleinert und gramnegativ wird. Die gramnegativen Bazillen sind kürzer, zart und oft mazeriert. Diese Tatsachen machen es wahrscheinlich, daß eine Auflösung des gesamten Ektoplasmas oder der oberflächlichen Membran stattgefunden hat. Auch liegt die Annahme nahe, daß die Enzyme, die allein oder in Verbindung mit anderen Zellbestandteilen die Gramfärbbarkeit der Organismen bedingen, im Ektoplasma oder in der Oberfläche sitzen. Jedenfalls ist die gramnegative Form vollkommen frei von enzymatischer Aktivität. Für die Sauerstoffgärung von Alkohol aber können schon grampositive Bazillen untauglich sein. Bei den gramnegativen Formen wird weiterhin fast jede Restatmung vermißt (unter Restatmung versteht man die Sauerstoffmenge, die von einer gegebenen Bakterienaufschwemmung in Abwesenheit eines gärfähigen Substrates aufgenommen wird); die Restatmung ist vielmehr proportional der Anzahl oder dem Gewicht der anwesenden grampositiven Bazillen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Groß, H., Das Plasmagerinnungsphänomen der Staphylokokken. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 304—306.)

Die Zitratblutgerinnung muß als eine für die lebenden Staphylokokken charakteristische Reaktion angesehen werden, die in weitem Maße eine Einteilung in pathogene und apathogene Staphylokokken gestattet. Die pathogenen Staphylokokken bringen Kaninchenzitratblut (in 1 ccm Blut, mit 1 ccm Natriumzitratlösung gemischt, 1 Öse 24stünd. Staphylokokken-Kultur gut verrieben) meist schon nach 1—2 Std. zur Gerinnung. Es genügt schon $^1/_{10\,000}$ Öse zur Plasmakoagulation, die dann allerdings erst nach 20 bis 36 Std. eintritt. Zu gewissen Zeiten des Wachstums ist der Gerinnungsstoff selbst in den keimfreien Filtraten nachweisbar. Er besitzt starke Thermoresistenz, mitunter führt sogar 1stünd. Erhitzung auf 100° noch nicht zur vollständigen Zerstörung. Apathogenen Staphylokokken fehlt diese Fermentbildung.

Rodenkirchen (Duisburg).

Muller, F. M., On the metabolism of the purple sulphur bacteria in organic media. (Archiv. f. Mikrobiolog. Bd. 4. 1933. S. 131—166.)

Verf. verfolgte die von van Niel gemachte Beobachtung, daß schwefeloxydierende Purpurbakterien in Abwesenheit von Schwefelwasserstoff in Lösungen mit organischen Stoffen im Licht, aber bei Abschluß von Sauerstoff, gedeihen. Gearbeitet wurde mit dem Chromatium-, und Pseudomonas-Typ van Niel's, als organische Stoffe wurden die Na-Salze der Milch-, Brenztrauben-, Essig-, Bernstein-, Äpfel- und Buttersäure gegeben. Dabei fand sich kein anderes Produkt als Zellmaterial und Kohlensäure; nur bei Buttersäure wurde kein CO_2 aufgenommen, sondern es verschwindet solches. Bei Milch- und Äpfelsäure stimmte der gegebene Kohlenstoff befriedigend mit dem als CO_2 ausgeschiedenen, im Zellmaterial festgelegten und im Substrat verbliebenen Menge überein, bei Essig-, Bernstein- und Buttersäure weniger gut; jedoch wird das Bild offenbar etwas durch das Dazwischentreten autolytischer Vorgänge gestört; außerdem

stimmt die Menge der gebildeten oder verschwundenen CO_2 überein mit dem verschiedenen Oxydationswerte des jeweiligen Substrates.

Der Verf. setzt sich nun eingehend mit der Theorie des Vorganges der Verarbeitung dieser organischen Stoffe auseinander, der auf die allgemeine Formel

$$CO_2 + 2\,H_2A \rightarrow CH_2O + 2\,A + H_2O$$

gebracht wird, wobei H_2A sowohl durch SH_2 wie durch organische Substanzen oder durch H_2O repräsentiert werden kann. Alle Vorgänge verlaufen über Brenztraubensäure, wie für die verschiedenen Substrate auseinandergesetzt wird. Stets finden dabei Dehydrierungen statt, wobei CO_2 den hauptsächlichen H_2-Acceptor darstellt; es handelt sich also z. T. noch um eine verschleierte Photosynthese. Daß dabei nicht immer, wie bei Buttersäure, Kohlensäure verschwindet, erklärt sich daraus, daß durch Decarboxylierung ja Kohlensäure entsteht, deren Menge im allgemeinen größer ist als die der assimilierten.

Bezüglich der Einzelheiten muß auf das Original verwiesen werden.

Rippel (Göttingen).

Nadson, G. A. und Rochlin, E. J., Über Radiumheferassen. Arch. f. Mikrobiol. 1933. Bd. 4. S. 189—208.)

Die Verff. behandelten die Berliner Preßheferasse XII mit Radiumemanation (Radon), meist 48 Stunden bei einer Stärke von 19,6—23,3 millecuries. Dann wurden Platten gegossen und die abgeänderten Formen durch Einzellisolierungen rein gewonnen. Bei der angewendeten Stärke des Radons fanden sich nur wenige Formen der Ausgangsrasse; Herabsetzung der Dosis bewirkte geringeres Auftreten abgeänderter Formen.

Die Ausgangsrasse (K) hat Riesenkolonien mit fast glattem, höchstens leicht gewelltem Rand und radiäre Furchen, die abgeänderte Formen A und B solche mit unregelmäßig gewellten Rändern und höckerig rauher oder gefalteter Oberfläche. Aus einer Smooth- sind Rough-Formen entstanden. Mikroskopisch unterscheidet sich A der Ausgangsform gegenüber durch kleinere, oft völlig runde, B durch langgestreckte Zellen. Die Merkmale blieben bisher 1½ Jahre durch etwa 32 Überimpfungen konstant. Auch durch Erhitzung, ferner durch Hunger und durch Aussaat auf vorher bewachsene Würze (Stoffwechselprodukte) konnte die Konstanz der neuen Rassen nicht aufgehoben werden; es handelt sich um Saltanten.

In einigen Fällen trat eine auf Würzeagar sehr reich sporulierende Form auf mit hörnchenförmig über das Substrat sich erhebenden Kolonien. Weiterimpfung ergab sehr polymorphe Nachkommenschaft. Nach 7—8 Überimpfungen ließ die Sporenbildung nach; die Rasse bildete jetzt sehr lebhaft sprossende Zellen des Typus A, ein Merkmal, das in der angegebenen Zeit konstant blieb.

Bei einer zweiten Radonbehandlung der sporulierenden Rasse wurden wieder Kolonien vom A- und B-Typus erhalten, aber auch eine neue Rasse C mit sehr kleinen und bräunlichen Riesenkolonien (während die der übrigen größer und perlmutterweiß sind); auch diese Rasse blieb bisher konstant, wenn es sich auch anscheinend um eine Degenerationsform handelt, wie die geringere Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperatur und die geringe Gärkraft zeigen.

Auch physiologisch unterscheiden sich die Rassen, und zwar in praktisch wichtigen Merkmalen: Rasse B gibt im Vergleich zur Ausgangsrasse A größere

Hefeernte, hat stärkere Gärkraft und setzt sich schneller ab. Rasse A übertrifft die Ausgangsrasse nur in den beiden letztgenannten Punkten.

Rippel (Göttingen).

Redinger, K., Epigene Cephalodien auf Opegrapha. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 237—240.)

In der auf Celebes gesammelten Flechte Opegrapha robusta Vain. fanden sich neben den obligaten Chroolepus-Gonidien Cyanophyceen-Nester (Aphanocapsa?), die äußerlich weder mit bloßem Auge noch mit der Lupe zu erkennen waren. Beim Querschnitt waren alle Entwicklungsstadien zu finden von einer 4-zelligen Gruppe bis zu mehr als 100 Zellen enthaltenden Nestern; sie liegen unmittelbar an oder in nächster Nähe der obersten Hyphenschicht. Möglicherweise werden sie ursprünglich durch wie Haare hervorragende Hyphen eingefangen. Damit wurden zum ersten Male Cyanophyceen bei Graphidaceen gefunden.

Rippel (Göttingen).

Bauch, R., Die Sexualität von Ustilago scorzonerae und Ustilago zeae. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 315—320, 4 Abb.)

Auf Malzagar bildet Ustilago scorzonerae typische „Suchfäden"; in Einsporidien-Kulturen treten diese Suchfäden nie auf. Der Pilz ist bipolar sexuell. Auch der Maisbrand bildet auf Malzagar Kopulationsstadien.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Prevot, A.-R., Études de systématique bactérienne. A. Lois générales. B. Cocci anaérobies. (Ann. Sciences Nat. Bot. Xe ser. T. 15. Fasc. 1. 1933. p. 23—260.)

Die umfangreiche Arbeit bildet das Resultat ausgedehnter Studien über die Systematik der Bakterien. Sie umfaßt: 1. Kritik der bisher aufgestellten Systeme; 2. grundlegende Vorschläge zur Aufstellung einer international anerkannten Einteilung und Klassifikation der Bakterien, aufgebaut auf der Basis der einschlägigen Arbeiten amerikanischer Forscher, und abgeleitet aus der in der botanischen Wissenschaft benutzten Systematik; 3. Aufstellung einer exakten Ordnung der Coccaceen, auf Grund eigener Studien, als Muster für die sub 2. genannten umfassenden Vorschläge. — Reichhaltige Literaturangaben nebst einer Tabelle der Coccaceen belegen und ergänzen die sehr lesenswerte Arbeit, bezüglich deren belangvollen Inhalts auf das Original verwiesen werden muß.

Limbach (Leipzig).

Krumbholz, G., Ist die Beibehaltung einer Gattung Torulospora berechtigt? (Archiv f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 167—169.

Die Gattung Torulospora hatte Lindner für rundliche, Torula-artige, an Fett reiche Formen mit Askussporen aufgestellt. Als weiteres Merkmal galt die Ausbildung kürzerer oder längerer, aber funktionsloser Kopulationsfortsätze. Alle Merkmale aber finden sich auch bei dem von Kroemer und dem Verf. kürzlich beschriebenen Zygosaccharomyces globiformis Kr. et Kz. Torulospora ist also zu Zygosaccharomyces zu ziehen. Z. globiformis scheint T. Rosei Guill. und lactis Dombr. nahezustehen.

Rippel (Göttingen).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Goreczky, L., Über die bakterizide Wirkung der Pyozyanase. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 483—488.)

Bakterizidieversuche, die mit den von stärker oder minder virulenten Pyozyaneusbakterien erzeugten Pyozyanasen (Stoffwechselprodukte der Pyozyaneusbakterien) ausgeführt wurden, haben ergeben, daß zwischen Virulenz und bakterizidem Effekt ein enger Zusammenhang besteht.

Rodenkirchen (Duisburg).

Braun, H. und Vásárhely, J. v., Über die oxydierenden und reduzierenden Fähigkeiten der Proteusbazillen und über die Beeinflussung dieser Fermentwirkungen durch Antikörper und Antiseptika. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 127. 1932. S. 105—111.)

Die Methylenblautechnik, mit deren Hilfe die Reduktions- und Oxydationsfähigkeiten der Bakterien festgestellt werden, ist viel empfindlicher als die Prüfung in den üblichen Laboratoriumsnährböden mit Zusatz von Indikatoren. Sie ist weiterhin geeignet, die Wirkungsweise der Desinfektionsmittel (und Chemotherapeutika) eingehender zu analysieren, als es mit den üblichen Methoden möglich ist. Rodenkirchen (Duisburg).

Auhagen, E., Co-Carboxylase, ein neues Co-Enzym der alkoholischen Gärung. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 204. 1932. S. 149—167.)

Der Co-Enzymkomplex der alkoholischen Gärung besteht nach den bisher gültigen Anschauungen aus einer Adenosinphosphorsäure, der eigentlichen Co-Zymase, welche zur Entfaltung ihrer Wirkung zu ergänzen ist durch anorganisches Phosphat, Hexosediphosphat und Magnesium. Wäscht man Trockenhefe mit einer schwach alkalischen Phosphatlösung von p_H 7,8 aus, so wird das gesamte Co-Enzymsystem entfernt. Das Gärungsvermögen der Hefe wird wohl durch Hefekochsaft, nicht aber durch gereinigte Co-Zymase + Mg + Phosphat + Hexosediphosphat regeneriert. Daraus schloß Verf., daß der Co-Enzymkomplex mindestens noch einen unbekannten Faktor enthalten müsse. Es zeigte sich, daß dieser unbekannte Stoff aus dialysiertem Hefekochsaft durch Bleiacetat füllbar ist und daß er sich über das Bariumsalz reinigen läßt. Anscheinend handelt es sich um eine organische Phosphorsäure, die nicht identisch mit Hefeadenylsäure, Co-Zymase, Adenylpyrophosphat, Cystein oder Glutathion ist. Acetaldehyd ist in bestimmter Optimalkonzentration zur Wirksammachung der Co-Carboxylase notwendig. Der Name dieses Stoffes soll ausdrücken, daß er zur Decarboxylierung der Brenztraubensäure notwendig ist; er wirkt also wahrscheinlich als Co-Enzym der Carboxylase. R. Koch (Berlin).

Nilsson, R. und v. Euler, H., Co-Zymase und Adenosintriphosphat. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 204. 1932. S. 204—210.)

Bei der alkoholischen Gärung schwankte die Co-Zymasewirkung verschiedener Adenosintriphosphorsäurepräparate erheblich. Ein hochgereinigtes Präparat zeigte keine Co-Zymasewirkung mehr.

R Koch (Berlin).

Virtanen, A. J. und Tarnanen, J., Die Sekretion und Thermostabilität der Bakterienproteinasen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 204. 1932. S. 247—258.)

Bisher wurde angenommen, daß gelatineverflüssigende Bakterien ihre Proteasen erst nach dem Absterben und Autolysieren der Zellen abgeben und daß nichtverflüssigende Arten keine Proteasen enthalten. Beides trifft nicht zu. Einerseits ist es gelungen aus typisch nicht verflüssigenden Milchsäurebakterien (B. casei ε) sowohl eine Gelatine und Casein spaltende Proteinase als auch eine Polypeptidase und eine Dipeptidase zu gewinnen. Andererseits konnte an ganz jungen Kulturen von B. fluorescens liquefaciens eine Sekretion von proteolytischen Enzymen in der Nährlösung beobachtet werden. Auch an Bac. subtilis wurden ähnliche Beobachtungen gemacht. Die abzentrifugierte Bakterienmasse einer 15 stündigen Fluorescens-Kultur vermochte nur 0,4 bis 0,6% der vom bakterienfreien Filtrat hervorgerufenen Caseinspaltung zu bewirken. Die abzentrifugierte Bakterienmasse enthielt eine Polypeptidase, welche erst durch die Zellautolyse freigemacht wird. Die von den lebenden Zellen sezernierte Proteinase wird in eiweißhaltigen Medien bei 100° C erst nach mehreren Minuten unwirksam, in eiweißarmen Lösungen wird das Enzym schon bei 60° C nach 30 Min. inaktiviert. Seine Thermostabilität beruht also auf einer Schutzwirkung der Eiweißstoffe.

R. Koch (Berlin).

Linneweh, F., Über die Spaltung des Arcains durch Mikroorganismen. III. Mitt.: Der biologische Abbau des Agmatins zu Carbaminyl-Putrescin. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 205. 1932. S. 126—132.)

Das beim biologischen Abbau des Arcains als Zwischenprodukt auftretende Agmatin wird durch Fäulnisbakterien (Mischkultur aus faulem Pankreasgewebe) in Carbaminylputreszin, Putreszin und Harnstoff verwandelt. Die dabei wirksamen Enzyme werden als Guanidodesimidasen bezeichnet.

R. Koch (Berlin).

Euler, H. v. und Nilsson, R., Adenosintriphosphorsäure und Co-Zymase. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 208. 1932. S. 173—181.)

Als Co-Ferment der Muskelglykolyse ist nach Lohmann das System Mg + Adenosintriphosphat anzusehen. Dieses Co-Fermentsystem aktiviert auch den Glukoseabbau in der Hefe, wenn auch nicht in demselben Maße wie die aus Hefe gewonnene Co-Zymase, welche auch als Co-Ferment der Muskelglykolyse wirkt. Verff. verglichen die Wirkung des aus Hefe gewonnenen Co-Ferments und des Adenosintriphosphats auf die Muskelglykolyse. Es zeigte sich, daß die Co-Zymase dem Adenosintriphosphat mindestens gleichwertig, mitunter sogar überlegen war. Verff. können sich nicht der Ansicht Lohmanns anschließen, daß die Hefe-Co-Zymase nur als Vorstufe des Glykolyse-Co-Enzyms wirkt.

R. Koch (Berlin).

Willstätter, R. und Rohdewald, M., Über den Zustand der zuckerspaltenden Enzyme in der Hefezelle. 3. Mitt.: „Zur Freilegung des Invertins aus der Hefe." (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 209. 1932. S. 38—48.)

Die Carbohydrasen der Hefe sind Endoenzyme. Sie sind anscheinend an eine Kohlehydrateiweißverbindung locker adsorbiert und durch die Membran der Hefezelle geschützt. Die Freilegung der zuckerspaltenden Enzyme gelingt nur nach Zerstörung der Zellmembran entweder durch Autolyse oder durch mechanisches Zerreiben der Zellen. Beide Wege der Enzymfreilegung sind jedoch noch an gewisse Vorbedingungen geknüpft,

die genauer studiert und besprochen werden. Verff. unterscheiden zwischen Desmo- und Endoenzymen. Erstere lassen sich nicht ohne Veränderung ihrer Eigenschaften aus den Zellen gewinnen, sie sind chemisch an Bestandteile der Zelle gebunden, während die Endoenzyme nur locker adsorbiert sind. Eine klare Trennung zwischen Desmo- und Endoenzymen ist nicht in allen Fällen möglich. R. Koch (Berlin).

Myrbäck, K., Euler, H. v. und **Hellström, H.,** Weitere Untersuchungen über die Hefen-Co-Zymase. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 212. 1932. S. 7—25.)

Die Co-Zymase der Alkoholgärung ist nicht identisch mit derjenigen der Milchsäuregärung. Verff. halten daran fest, daß das Mononukleotid ihrer Präparate nicht mit der Muskeladenylsäure identisch ist, diesem Stoff aber chemisch nahesteht. Es scheint sich um eine Adenylsäure zu handeln, die aber bisher noch nicht in kristallisierter Form vorliegt. Ein Vergleich der Ultraviolettabsorptionsspektra verschiedener Adenylsäuren einerseits, als auch verschiedener Co-Zymasepräparate anderseits ergab, daß die Hefeadenylsäure ein mit der Muskeladenylsäure so nahe übereinstimmendes Spektrum zeigt, wie nicht von vornherein zu erwarten war. Die Adenylgruppe scheint also in beiden Stoffen in gleichem oder ähnlichem Zustande vorzuliegen. Es gelang nicht, Co-Zymase durch ein Nierenphosphatasepräparat zu inaktivieren. Die enzymatische Inaktivierung der Co-Zymase scheint also nicht auf Phosphatabspaltung zu beruhen. Auch bei der Hitzeinaktivierung, deren Mechanismus unbekannt ist, findet nur eine langsame und unvollständige Phosphatabspaltung statt. Dagegen scheinen Veränderungen im Mononukleotidmolekül vor sich zu gehen, die ihren Ausdruck in einer Änderung des spezifischen Drehungsvermögens der Substanz finden. Orientierende Bestimmungen von Titrationskurven lieferten keine klaren und endgültigen Ergebnisse. R. Koch (Berlin).

Graßmann, W. und **Peters, T.,** Zur Freilegung des Invertins aus der Hefe. II. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 204. 1932. S. 135—148.)

Die Freilegung des Hefeinvertins aus den Zellen gelingt nicht durch einfache Extraktionen, da dieses Enzym in irgendeiner Form durch Trägersubstanzen geschützt wird, die erst durch andere Enzyme abgebaut werden müssen. Dieser Abbau gelingt einerseits mit Amylasen pflanzlichen Ursprungs wie Malzamylase oder den amylasereichen Auszügen des Aspergillus oryzae und andererseits durch Proteasen wie Papain oder die bei der Hefeautolyse wirksamen Hefeproteasen. Entsprechende Enzyme tierischen Ursprungs wie die Speichelamylase oder Trypsin bzw. Pepsin sind unwirksam. Zur Prüfung der Wirkung proteinasefreier Malzamylasen, deren Darstellung beschrieben wird, muß das Enzymsystem der Hefe so geschädigt werden, daß die Saccharase erhalten bleibt, die bei der Autolyse wirksamen saccharaselösenden Enzyme aber unwirksam gemacht werden. Dies gelingt durch Vorbehandlung der Hefe mit Essigester bei 40° C.

R. Koch (Berlin).

Seiffert, W., Der Ablauf des d'Herelleschen Phänomens im Rahmen des bakteriellen Verwendungsstoffwechsels. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 127. 1932. S. 122—132.)

Die Lysine sind allem Anschein nach nicht in der Lage, von sich aus direkt das Bakterieneiweiß zu ihrer Vermehrung zu benutzen, auch nicht bei jüngeren sich teilenden Bakterien, da sonst die Agenszunahme auf jedem Nährboden erfolgen müßte, der eine Vermehrung der Bakterien erlaubt. Es sind vielmehr ganz bestimmte Assimilationsvorgänge in den Bakterien Voraussetzung, d. h. es müssen ganz bestimmte Verbindungen im Laufe der Assimilation entstehen, damit das d'Herellesche Agens ein Substrat findet, an dem seine fermentative Wirkung einsetzen kann. Wird dieses Substrat von den Bakterien nicht gebildet, so bleibt die Agensvermehrung aus. Der Aufbau dieses Substrates ist an die Gegenwart bestimmter C-Quellen gebunden. Aber auch die bloße Gegenwart einer tauglichen C-Quelle genügt noch nicht, es muß vielmehr ihre Verwendung im Rahmen der assimilatorischen Vorgänge erfolgen. Die N-Quelle darf also nicht schon genügend C enthalten, um den Assimilationsbedarf zu decken. Anderenfalls, auch bei Zusatz einer an sich tauglichen C-Quelle, keine Agensvermehrung. — Die parasitäre Deutung des d'Herelleschen Lysins erscheint immer gezwungener. Rodenkirchen (Duisburg).

Bertarelli, E., Experimentelle Forschungen und Bemerkungen über die Messung und Titrierung der lytischen „Tätigkeit des Bakteriophagen". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 38—42.)

Da es praktisch von Bedeutung ist, festzustellen, welche prozentuale Zahl von Keimen durch einen Bakteriophagen lysiert werden kann, ist vom Verf. eine Methode ausgearbeitet worden, die einen wirklich numerischen Titer festzusetzen gestattet. Es wird vorgeschlagen, diesen „lytischen Titer" oder „bakteriophagischen Titer" zu benennen und darunter den Prozentsatz der lysierten Keime in 1 ccm Bouillon-Kultur (der auf 100 ccm 0,5 ccm lytische Flüssigkeit zugesetzt worden ist) nach 24 Std. Bebrütung bei 37° zu verstehen. Alles Nähere über die Methodik im Original.

Rodenkirchen (Duisburg).

Bertarelli, E., Schwankungen des bakteriophagischen Titers in den Wechselbeziehungen zum Bacterium coli. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 36—37.)

Die Phagenresistenz verschiedener Coli-Stämme schwankt in weiten Grenzen; während im einen Fall innerhalb von 30 Std. 85% der mit dem Phagen zusammengebrachten Stämme der Lysis verfielen, betrug bei anderen Stämmen der Prozentsatz nur 30. Stark phagosensible Stämme steigern die Wirksamkeit eines Bakteriophagen, aber in sehr wechselndem Maße.

Rodenkirchen (Duisburg).

Almon, L. und **Wilson, P. W.**, Bacteriophage in relation to nitrogen fixation by red clover. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 209—219.)

Die Verff. untersuchten, ob Stämme von Rotkleebakterien, die teils resistent, teils nicht resistent dem Bakteriophagen gegenüber waren, sich in ihrem Stickstoff-Bindungsvermögen an der Pflanze unterschieden. Das war indessen nicht der Fall, da in beiden Fällen die Fähigkeit zur Stickstoffbindung stark variierte.

Wenn dem Stamm vor der Impfung der Pflanze der Bakteriophage hinzugegeben wurde, so enthielten die sich entwickelnden Knöllchen oft nur den resistenten Typus. — In diesem Falle war die N-Bindung herab-

gesetzt, wenn es sich um einen „guten", nicht beeinflußt, wenn es sich um einen „schlechten" Stamm (im Sinne des N-Bindungsvermögens) handelte. Zugabe des Bakteriophagen zu dem resistenten Typus ergab nur resistente Bakterien in den Knöllchen. Die Stickstoffbindung war nicht beeinflußt.

Die Versuche wurden unter Bedingungen angestellt, welche andere als die geimpften Bakterien ausschlossen. Rippel (Göttingen).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Hüttig, C., Eichstädt, A. und Hahn, H. F., Untersuchungen über die Beeinflussung der Milch durch das Zentrifugieren bei Anwendung verschiedener Temperaturen. (Milchwirtschaftl. Zeitg. 38. Jahrg. Nr. 7. 1933. 3 Tab.)

Verff. unterwarfen auf 20, 40, 60 und 65° C erwärmte Milch der Zentrifugenreinigung und untersuchten sie vor und nach Reinigung auf Trommsdorff-Grade, Schmutzgehalt, Keimzahl auf Laktose-Agar, Leukozytenzahl; außerdem wurde die Katalase-, Gär- und Labgärprobe durchgeführt.

Die Keimzahl erfuhr durch die Zentrifugenreinigung bei 20° C vorwiegend eine Abnahme, bei 40° C eine Zunahme. Bei 60 und 65° C hielten sich Ab- und Zunahme ungefähr die Wage. Der Leukozytengehalt zeigte in fast allen Fällen eine deutliche Abnahme. Die Verminderung betrug im Gesamtdurchschnitt 51,3%. Die Ergebnisse der Katalase- und der Trommsdorff-Probe verhielten sich im wesentlichen wie die Leukozytenzahlen. Bei der Gär- und Labgärprobe zeigten die Ergebnisse vor und nach dem Zentrifugieren bei den verschiedenen Temperaturen zu wenig Regelmäßigkeiten, als daß auf eine Beeinflussung in bestimmter Richtung geschlossen werden konnte.

In bakteriologischer Hinsicht bietet somit das Zentrifugieren bei 60° und 65° C keine Nachteile gegenüber dem Zentrifugieren bei 20 und 40° C. Ein Teil des vorhandenen Schmutzes geht in Lösung. Die Schmutzprobe der bei 60 und 65° C mit der Zentrifuge gereinigten Milch zeigt daher einen größeren Reinheitsgrad an. Von Vorteil ist auch die bei diesen Temperaturen stattfindende teilweise Entlüftung der Milch.

H. Mossel (Weihenstephan).

Dahlberg, A. C., The margin of safety between the thermal death point of the tubercle bacillus and the thermal cream layer volume impairment in pasteurizing milk at various temperatures. (N. Y. State Agr. Exp. Stat., Techn. Bull 203. 1932.)

In Form von graphischer Darstellung wird angegeben, welche Mindest-Zeitspannen zur Abtötung der Tuberkelbakterien nötig sind, und wie lange Milch erhitzt werden darf, um die Aufrahmfähigkeit tunlichst nicht zu beeinträchtigen. Als Grenzwerte sind die Temperaturen zwischen 135° F und 160° F angenommen, woraus sich durch entsprechende Variierung von Erhitzungsdauer und Temperatur eine ganze Reihe von Einzelwerten für die Pasteurisierung aufstellen läßt. Limbach (Leipzig).

Wayne, R., and Macy, H., The effect of various methods for drying up cows on the bacterial and cell content of milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. XVI. 1933. p. 79—91.)

Die Kühe wurden auf folgende Weise trocken gestellt: 1. durch unvollständiges Ausmelken, 2. durch zeitweises Aussetzen mit dem Melken, 3. durch

Kombination des unvollständigen Ausmelkens mit zeitweisem Aussetzen des Melkens und 4. durch plötzliches und völliges Aussetzen mit dem Melken bis zur Geburt. Sämtliche Verfahren zeigten wenig Unterschiede hinsichtlich Beeinflussung des Bakterien- und Zellgehaltes der Milch in der darauffolgenden Laktationsperiode. Das völlige Aussetzen mit dem Melken schien aber am günstigsten zu wirken. Die während der zeitweisen Aussetzungs- und unvollkommenen Ausmelkperiode gewonnene Milch wies keine bleibenden Unterschiede gegenüber der ehedem normal gewonnenen Milch auf. Unmittelbar nach den Perioden, wo das Trockenstehen lediglich durch zeitweises Aussetzen des Melkens erzielt wurde, war der Keimgehalt der Milch leicht, der Zellgehalt stark erhöht, was darauf hinweist, daß es besser ist, das Melken bis zur nächsten Geburt überhaupt einzustellen, anstatt nach dem Aussetzen wieder zu beginnen. Ganz allgemein war der Bakteriengehalt der ersten Gemelke unmittelbar nach der Geburt niedriger als der während der folgenden 10 Tage. Während der Kolostralperiode war der Zellgehalt allgemein höher und nahm dann mit fortschreitender Laktation ab. Der durchschnittliche Keimgehalt von 284 normalen, aseptisch ermolkenen Milchproben war 658, der Zellgehalt 1 252 000 pro cm^3 (vgl. aber die weitaus niedrigeren Beträge im folgenden Referat d. Ref.).

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Ritter, W., Die beweglichen Kurzstäbchen im Magenlab. (Milchwirtschaftl. Forschungen. Bd. 15. 1933. S. 4—21, 10 Tab.)

Für die in dem vom Käser bereiteten Magenlab sich häufig findenden Kurzstäbchen wurden Anreicherungs- (Bebrütung bei 30° C, Züchtung in saurer Schotte, p_H etwa 4,0—3,5) und Reinzuchtverfahren (Züchtung in einer sauren Käsereikultur von 44° S. H. mit Zusatz von Gentianaviolett in der Konzentration 1 : 200 000) ausgearbeitet. Die beweglichen Kurzstäbchen wurden eingehend untersucht und auf Grund ihrer Eigenschaften im Gegensatz zu der weitverbreiteten Annahme einer Colinatur (womit nicht gesagt sein soll, daß Colibakterien im Magenlab nicht vorkommen) als eine Art von beweglichen Essigbakterien erkannt. Ihre wesentlichste Eigenschaft ist die stark ausgeprägte Befähigung, Milchsäure abzubauen, wodurch sie unter Umständen bei gemeinsamer Züchtung mit Milchsäurebakterien vor allem Bact. casei epsilon, diese vor der ungünstigen Wirkung der Säure schützen können. H. Mossel (Weihenstephan).

Demeter, K. J., Erfahrungen über Beeinflussung des Keimgehaltes der Milch durch die Melkmaschine. (Molkerei-Ztg. Jahrg. 47. 1933. S. 341—343, 4 Tab.)

Untersuchungen über die Veränderung des Keimgehaltes (Gesamtkeimzahl auf Lactose-Agar, Säurebildnerzahl und Coli-aerogeneszahl) von maschinell ermolkener Milch im Zusammenhang mit dem zeitlichen Abstand seit der Generalreinigung der Melkmaschine zeitigten das Gegenteil von dem, was man erwartet hatte, nämlich ein nur schwaches Ansteigen der Gesamtkeimzahl in den ersten 3—5 Tagen nach Generalreinigung und anschließend sogar einen deutlichen Rückgang in der 7—10-Tage-Periode. Der Rückgang war besonders deutlich bei der Coli-aerogenesgruppe; die Säurebildner blieben konstant.

Der Einfluß von chlorhaltigem Desinfektionsmittel (Caporit) auf den bakteriologischen Befund der mit der Maschine ermolkenen Milch war sehr günstig. Ohne Desinfektion der Melkmaschine mit 0,3 proz. Caporitlösung

war eine Erhöhung der Gesamtkeimzahl und der Säurebildnerzahl zu beobachten. Der Coli-aerogenes-Titer dagegen wurde nicht beeinflußt.

Bei einem Vergleich von maschinenermolkener und handgemolkener Milch zeigte sich, daß mit dem Handmelken wesentlich bessere Keimzahlwerte als mit der Maschine erzielt werden. Verf. erklärt diese Erscheinungen an Hand der einschlägigen Literatur und weist darauf hin, daß das Melkmaschinenproblem nur durch Belehrung und Gewissenhaftigkeit des Melkpersonals einer günstigen Lösung zugeführt werden könne.

H. Mossel (Weihenstephan).

Meyer, L., Bakteriologische Untersuchungen an Melkeimern. (Österr. Milchwirtschaftl. Ztg. Jahrg. 40. 1933. S. 111—112 u. 127—128, 3 Tab.)

Beim Vergleich von 3 Melkeimertypen (gewöhnlicher offener, Henkelscher und Evau-Eimer) wurde folgendes festgestellt:

1. Bei „markiertem" Melken der gut abgeriebenen Euter derselben Kühe (lediglich Ausführung der Melkgriffe) fallen am meisten Keime in den offenen Eimer, ungleich weniger in den abgedeckten Evau-Eimer und noch weniger in den Henkel-Eimer. Die auf dem Sieb des letztgenannten aufgefangenen Keime werden beim wirklichen Melken durch die Milchstrahlen in die Milch abgeschwemmt. Die Überlegenheit dieses Eimers über den Evau-Eimer besteht also nur scheinbar.

2. Petrischalen, die je 2 Min. in und auf die sterilen Eimer beim „markierten" Melken gestellt wurden, lassen erkennen, daß in die bedeckten Eimer nur wenige Keime gelangen. Der offene Eimer nimmt ungefähr gleich viele Keime auf wie die Deckel der bedeckten Eimer.

3. Die Keimzahl der aus dem trocken gereinigten Euter in die sterilen Eimer gemolkenen Milch zeigt wieder die Gleichheit der beiden gedeckelten und den großen Unterschied des offenen.

4. Bei Verwendung nicht sterilisierter Eimer ist deutlich erkennbar, daß die Mehrzahl der in die Milch gelangten Keime nicht aus der Luft, sondern aus den Gefäßen selbst stammt. Es ergibt sich, daß die gedeckelten Melkeimer die Milch besser vor Infektion schützen, als offene Eimer. Der Henkel-Eimer bietet mit seinem Sieb keine größeren Vorteile als der Evau-Eimer. H. Mossel (Weihenstephan).

Henneberg, W., Die bakteriologische Rahmuntersuchung, eine einfache „qualitative und quantitative" bakteriologische Schnellanalyse der Einlieferungsmilch und dergl. (Molkerei-Ztg. 1933. Nr. 13.)

Da die bisher für die Schnellanalyse von Milch gebräuchlichste Methode, die Federstrichmethode, erst nach etwa 24 Std. genauere Feststellungen erlaubt, geht Verf. nicht mehr von der Milch, sondern vom frisch aufgestiegenen Rahm aus. Mit den Fetttröpfchen werden nämlich auch die meist in kleinen Kolonien zusammenhängenden Bakterien an die Milchoberfläche gebracht. Man streicht eine kleine Öse Rahm (evtl. mit Wasser verdünnt) auf dem Objektträger aus und betrachtet das ungefärbte oder mit Löfflerschem Methylenblau gefärbte Präparat mit der Ölimmersion. Man kann dann aus der Gestalt, Größe und Färbbarkeit auf die Keimart Schlüsse ziehen und den Keimgehalt abschätzen. Außerdem läßt sich das nicht aufgetrocknete und ungefärbte Rahmtröpfchen mit einem Deckglas und Vaselinring versehen und kann so z. B. bei verschiedenen Temperaturen aufbe-

wahrt und auf das verschiedene Wachstum der Kolonien beobachtet werden. Gegenüber dem Zentrifugatausstrich hat diese Methode noch den Vorteil, daß die Bakteriennester nicht zerrissen werden. Diese Rahmtröpfchenmethode kann noch nach den verschiedensten Richtungen variiert werden und stellt ein wichtiges Hilfsmittel zur raschen Diagnose von Milch dar.

H. Mossel (Weihenstephan).

Dannhofer, O., Ein neues Hilfsmittel bei der Vornahme bakteriologischer Untersuchungen im Molkereilaboratorium. (Milchwirtschaftl. Zeitg. 38. Jahrg. 1933. S. 479—481, 4 Abb.)

Es werden vom Verf. vorgeschlagene und von der Firma Paul Funke & Co., Berlin N 4, Chausseestr. 8, zu beziehende neuartige gebrauchsfertige Kulturröhrchen beschrieben. Sie sind in erster Linie für kleinere Molkereilaboratorien vorgesehen, die für die Nährbodenherstellung nicht eingerichtet sind. Die Kulturröhrchen sind mit Agar und Wattepfropfen versehene Reagensröhren, denen ein kürzeres Reagensglas von der gleichen Weite aufgeschmolzen ist. Dadurch ist das Röhrchen allseitig verschlossen und der Inhalt vor Austrocknung und Infektion bewahrt. Vor Gebrauch wird das über dem Wattepfropfen befindliche Röhrenende durch Aufdrücken eines heißen Glasstabes auf eine Kerbe am Sitz des Wattepfropfens abgesprengt. Der Agar kann dann nach Belieben (insbesondere auch zur Durchführung der Burrischen Keimzählmethode) verwendet werden.

H. Mossel (Weihenstephan).

Küster, A. und **Moog, H.**, Betrachtung über die Keimzahlbestimmung nach der Methodik des letzten Runderlasses des Preußischen Landwirtschaftsministeriums. (Milchwirtschaftl. Zentralbl. Jahrg. 62. 1933 S. 117—120, 2 Tab.)

Verff. stellten Keimzählungen in Milch an mit dem für Preußen vorgeschriebenen Milchzuckeragar und 24 stünd. Bebrütung bei 37° C. Dazu setzten sie mit dem gleichen Nährboden jedoch bei 30° C-Bebrütung (24, 48, 72 und 96 Std.) erhaltene Keimzahlen in Vergleich und fanden, daß die 24 stünd. Bebrütung bei 30° C etwa 3 mal so hohe Werte ergibt wie die gleichlange bei 37° C. Außerdem erwies sich die 24 stünd. Bebrütung sowohl bei 30° C als auch bei 37° C als zu kurz, weil durch länger dauernde Bebrütungen festgestellt wurde, daß die Keimzahl noch wesentlich ansteigen kann infolge späteren Auskeimens eines größeren Teiles der Keime. Auch hierbei bewahrte die 30°-Bebrütung ihren Vorsprung gegenüber der 37°-Bebrütung. Die Verff. sind vorläufig dazu übergegangen, die praktischen Keimzahlbestimmungen für die Folge bei einer Bebrütung von 48 Std. bei 30° C unter Verwendung des Standard-Nährbodens vorzunehmen.

H. Mossel (Weihenstephan).

Bünger und **Glet**, Bericht über die Prüfung der Wattescheiben der Fa. Hartmann A.-G. Heidenheim, in bezug auf ihre Eignung für die Milchfiltration. (Molkerei-Ztg. 47. Jahrg. 1933. S. 711—714, 1 Abb.)

An dieser Arbeit interessiert vom bakteriologischen Standpunkt aus folgendes Ergebnis:

Die bakteriologische Untersuchung der Milch, — bestehend aus Bestimmung des Colititers und Durchführung der Gärreduktaseprobe, — vor und nach dem Filtrieren ergab keine so wesentlichen Unterschiede, um

eine Klassifizierung der geprüften Wattescheiben nach dieser Richtung hin vornehmen zu können. Irgendein gesetzmäßiges Ansteigen oder Abfallen der Keimzahlen im Verlauf der Filtration konnte bei keiner der geprüften Wattescheibensorten festgestellt werden. H. Mossel (Weihenstephan).

Kelly, C. D., The influence of certain lactic acid streptococci on the chemical changes in cheddar cheese during ripening. (N. Y. State Agr. Exp. Stat., Techn. Bull. 200. 1932.)

Die mit Streptococcus lactis und Strept. cremoris angestellten Untersuchungen zeigten, daß beide Species vornehmlich zur Säurebildung im Käse geeignet sind und dessen Aroma nur wenig beeinflussen. Der Abbau des Milchzuckers geht in etwa 10 Tagen vor sich; der Bakteriengehalt nimmt innerhalb dieser Zeitspanne rapid zu, um danach ebenso stark abzusinken. Beide verwendeten Stämme verhielten sich ziemlich gleichartig. Limbach (Leipzig).

Kelly, C. D., Lactic acid streptococci associated with the early stages of cheddar cheese ripening. (N. Y. State Agr. Exp. Stat., Techn. Bull. 201. 1932.)

In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen (siehe vorstehendes Ref.) wurde gefunden, daß Unterschiede im Aroma der mit Strept. cremoris bzw. Strept. lactis hergestellten Käse nur anfänglich vorhanden sind, sich dagegen im weiteren Verlaufe der Reifung ausgleichen. Limbach (Leipzig).

Fabian, F. W., Bryan, C. S., and Etchells, J. L., Experimental work on Cucumber fermentation. (Agric. Exp. Stat., Michigan State College of Agric. a. Appl. Sc., Techn. Bull. 126. 1932. p. 1—60.)

Die Erzeugung gesundheitlich und geschmacklich erstklassiger Ware bei der Einsäuerung von Gurken in Salzsole gelingt nicht immer gleich gut, und die Verluste, die durch Verfaulen eingesäuerter Gurken entstehen, sind oft erheblich. Die beste Sicherung dagegen ist eine genaue Kenntnis und Überwachung des mikrobiologischen Vorganges. Es ist darum verdienstvoll, wenn Verff. an Hand zahlreicher Experimente die Ursachen, die zur Schwärzung, zum Anfaulen oder zum gänzlichen Verfaulen eingepökelter Gurken führen, aufzudecken versuchen. Der bakteriologische Vorgang der Gurkenkonservierung beruht darauf, daß die erwünschten säurebildenden Bakterien durch den hohen Kochsalzgehalt der Sole nicht geschädigt, die fäulniserregenden Bakterien dagegen in dieser Sole abgetötet werden. Durch einen geringen Zuckerzusatz kann man die Vermehrung der Säurebildner und damit auch den Säuregrad selbst steigern. Andererseits kann man sich bei sehr niedriger Salzkonzentration der Sole auch helfen, indem man ihr etwas Essigsäure zufügt. Das Wichtigste ist die genügende Menge und Güte des verwendeten Salzes. Karbonathaltiges Salz ist ebenso wie stark karbonathaltiges Wasser unbrauchbar wegen der neutralisierenden Wirkung auf die sich bildenden Säuren. In besonders konzentrierten Solen fermentierte Gurken zeichnen sich durch hohen Säuregehalt und besondere Festigkeit aus. Außenfaktoren, wie Temperatur, Wind, Luftfeuchtigkeit, sind ebenfalls zu beachten, da sie Salzkonzentration und Bakterientätigkeit beeinflussen. Die zuweilen auftretende Schwärzung der Gurken beruht auf Abscheidung von Eisensulfid in säurefreier Sole, in der sich Schwefelwasser-

stoff bildende Fäulnisbakterien entwickeln können. Rechtzeitiger Zusatz von Zucker oder Essigsäure kann hier wie bei gewöhnlicher Fäulnis vor völligem Verderben der Ware schützen. In sachgemäß fermentierten sauren Gurken sind die Zellen nur plasmolysiert, sonst aber unverändert. Bei Fäulnis verschwindet zuerst das Pektin und dann die ganze Zellwand. Die Leitungsbahnen und die Samen der Gurken widerstehen der Zersetzung am längsten.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hessenmüller, K., Filtration bis zur völligen Entkeimung? (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. 72. 1933. S. 21.)

Das durch besonders scharfe Filtration steril gemachte Bier ist — wenn es nicht weiterhin auch beim Abziehen steril erhalten werden kann — gegen eine neuerliche Infektion besonders empfindlich. Es ist daher zu prüfen, ob nicht der natürliche Weg der Erzielung größtmöglichster Haltbarkeit der gegebene ist, der auf begrenzter Anwendung der Desinfektionstechnik und Schaffung von Bedingungen basiert, welche die Bierhefe schützen und stärken und ihren Kampf gegen andere Organismen begünstigen.

Heuß (Berlin).

Rehbock, H.-J., Vergleichende Untersuchungen über die Konservierungsverluste und den Futterwert von Wiesengras 1. u. 2. Schnitt bei Feimengrasherstellung, Silofutterbereitung und Heuwerbung. (Ztschr. f. Tierzücht. u. Züchtungsbiol. Bd. 26. 1933. S. 163—191.)

Die Untersuchungen bestätigen die schon seit langem gemachte Erfahrung, wonach die Silofutterbereitung (hier unter Zusatz von Zucker resp. Zucker + Salzsäure zum Füllgut durchgeführt) einen ungleich höheren Wert gegenüber den anderen Verfahren besitzt. Vornehmlich das hier eingehend geprüfte holländische Feimenverfahren ist für die Verarbeitung hochwertigen Futtermaterials keineswegs geeignet; allenfalls kann es dazu dienen, durch die dabei auftretenden hohen Temperaturen (70° und mehr) schachtelhalmhaltiges Wiesengras zu entgiften.

Limbach (Leipzig).

Gneist, K., Die überragende Bedeutung der p_H-Zahl bei der Silofutteruntersuchung. (Weidewirtsch. u. Futterbau 1933. Nr. 1. S. 1—3.)

Da nach W. U. Behrens das Verhältnis freie : gesamte Säure in bestimmter Beziehung zum p_H-Wert steht, so bildet dieser bei der Untersuchung von Silofutter auf seine qualitative Beschaffenheit den besten Gradmesser. Die Feststellung der p_H-Zahl ist zudem viel weniger umständlich als die übliche Säurebestimmung nach Wiegner.

Limbach (Leipzig).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Itano, A. und **Arakawa, S.**, Mikrobiologie organischer Düngemittel. I. Zersetzung von Rapskuchen durch eine Anzahl Stammkulturen. (Journ. Science Soil a. Manure Japan. Vol. 6. 1932. p. 35. — Autoreferat in Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. A. Bd. 27. 1932. S. 109.)

12 Bakterienstämme, 12 Pilz-Spezies und 8 Aktinomyzeten-Kulturen wurden untersucht. Am nachhaltigsten zersetzten die Aktinomyzeten, sodann folgten die Sporenbildner; zuletzt Rhizopus.

Limbach (Leipzig).

Gerlach, M., Die Ergebnisse langjähriger Feldversuche über die Wirkung des Stall- und Handelsdüngers. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. B. Jahrg. 11. 1932. S. 385—432.)

Verf. berichtet über Versuche, die zu Anfang dieses Jahrhunderts auf 3 Schlägen zweier ostdeutschen Versuchswirtschaften während 12 Jahren durchgeführt worden sind. Die bebauten Schläge hatten leichten Boden, der bei genügender Düngung und entsprechender Feuchtigkeit befriedigende Ernten lieferte. Es wurden Hackfrüchte, Halmfrüchte, Klee und Winterraps angebaut und während der gesamten Versuchsperiode mit Handelsdünger und mit Stallmist gedüngt. — Die Ergebnisse erwiesen, daß durch Handelsdünger allein dieselben Erträge erzielt werden konnten als durch Stalldung und Handelsdünger zusammen. Der Stalldünger wirkte auf lehmigem Sandboden merklich ertragsteigernd, seine Wirkung schien indessen lediglich auf der Ausnutzung der Nährstoffe Stickstoff, Kali und Phosphorsäure zu beruhen; „. . . ein Einfluß der organischen Masse und der Bakterien im Stalldünger sowie der in ihm erzeugten Kohlensäure auf den Ertrag war bei den Versuchen nicht nachweisbar.“ Die tätige Mitwirkung von stickstoffixierenden Mikroben wird ausdrücklich festgestellt, doch hält Verf. diese Wirkung durch die Tätigkeit stickstoff ent bindender Organismen praktisch für aufgehoben. Limbach (Leipzig).

Siemens, K. H., Bodenbiologie und Phosphorsäuredüngung. (Phosphorsäure. Bd. 2. 1932. S. 314.)

Da die Mikroorganismen zum Zellaufbau Phosphorsäure in mineralischer Form aus dem Boden entnehmen, so entziehen sie diese Mengen der anorganischen Festlegung. Die Boden- und Düngerphosphorsäure wird bei lebhafter Bakterientätigkeit im Boden durch die entwickelte Kohlensäure gelöst. Limbach (Leipzig).

Niklas, H., Poschenrieder, H. und Trischler, J., Urteile und Erfahrungen über die Verwendbarkeit und Brauchbarkeit der Aspergillus-Kali-Methode und deren Beurteilung nach dem Stand der bisherigen Forschungsergebnisse. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. B. Jahrg. 12. 1933. S. 109 ff.)

Verff. berichten eingehend über die Resultate ihrer nunmehr seit 2½ Jahren verwendeten mikrobiologischen Kali-Bestimmungsmethode mittels Aspergillus niger. Ein Vergleich der gewonnenen Ergebnisse mit denen anderer Untersuchungsmethoden ergab: befriedigende Übereinstimmung mit dem Feldversuch, sehr guter Einklang mit dem Neubauer-Verfahren und verhältnismäßig schlechte Kongruenz mit der Mitscherlich-Methode. Im allgemeinen sind die allerorten mit der Aspergillus-Kali-Methode gemachten Erfahrungen als günstig zu bezeichnen. Die Veröffentlichung der Versuchsresultate über Phosphorsäurebestimmung folgt demnächst. Limbach (Leipzig).

Hoffmann, W., Die Herstellung einer kolorimetrischen Standardlösung zur Bestimmung der Humifizierungszahl bei Moorböden. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. A. Bd. 28. 1933. S. 102 ff.)

Die bei der Bestimmung des Humusanteils im Boden nach Odén verwendete kolorimetrische Vergleichslösung wurde bisher auf recht umständliche Weise hergestellt (u. a. 10stünd. Zentrifugieren); auch stören bei Verwendung dieser Lösung vielfach suspendierte Humussäure-Teilchen, und es treten auch analytische Fehler auf. Verf. vereinfacht und verbessert die Herstellung der genannten Standardlösung, vor allem durch Anwendung von Ultrafiltration, welche Zentrifugieren und Abhebern ersetzt. Die gewonnenen Präparate sind kolorimetrisch genauer und gleichmäßiger als die bisher verwendeten Lösungen; auch können sie in erheblich kürzerer Zeit dargestellt werden. Limbach (Leipzig).

Engel, H., 1. Zur Physiologie der Nitrifikationsorganismen im natürlichen Boden. I. Der Einfluß stickstoffhaltiger organischer Stoffe auf die Nitrifikation. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. A. Bd. 27. 1932. S. 1—21.)

Die Ammonifikation und Nitrifikation stickstoffhaltiger organischer Substanzen wurden in ihrem zeitlichen Verlaufe geprüft. Als Versuchsmedium wurde ein schwach gepufferter, leichter Sandboden verwendet; nitrifiziert wurden Harnstoff, Pepton und Blutmehl, sowie, zum Vergleich, Ammoniumsulfat. Verf. fand, daß die organischen Stickstoffverbindungen durchweg besser nitrifiziert wurden als das $(NH_4)_2SO_4$. Eine Schädigung der Nitrifikationsorganismen resp. Beeinträchtigung ihrer Tätigkeit konnte nicht festgestellt werden; im Gegenteil konstatierte Verf. eine Förderung der Nitratbildung durch die Zunahme der alkalischen Bodenreaktion infolge der auftretenden Fäulnisprozesse. Zum Schluß werden ältere Befunde der einschlägigen Literatur zitiert und ausgewertet. Limbach (Leipzig).

Pfeilsticker, K., Die elektrische Leitfähigkeit von Bodenpreßsäften. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. A. Bd. 28. 1933. S. 36 ff.)

Bodenpreßsäfte, nach v. Wrangell dargestellt, wurden auf ihre elektrische Leitfähigkeit hin untersucht. In Ca-Böden ändert sich der Gehalt an Kalzium entsprechend dem Verlauf der Nitrifikation; die Leitfähigkeit wird infolge Bildung von Ca-Nitrat größer bei zunehmender Nitrifikation; im umgekehrten Falle sinkt sie entsprechend ab. Auf diese Weise bildet die Leitfähigkeitsmessung eine ebenso genaue wie bequeme Kontrolle für den Verlauf der Nitrifikation. Limbach (Leipzig).

De Rossi, G., La fixation de l'azote élémentaire dans le sol. III. Activité végétative et pouvoir fixateur des Azotobacters. (Soc. Intern. di Microbiol., Boll. della Sez. Italiana. Vol. 4. 1932. p. 511—516.)

Als Mittel von 3 verschiedenen Böden zu je 5 g wurden 7,4 mg Gesamtstickstoff bestimmt und 7150 Azotobacter-Zellen gezählt. Nach Zugabe von 2% Mannit und 50% Wasser und einer Kulturdauer von 10—12 Tagen bei 32—34° C erhöhten sich diese Zahlen auf 8,06 bzw. 437 918 000. In genau so behandelten Kontrollproben ohne Mannit konnte nur eine äußerst schwache Vermehrung dieser Bakterien und kein Stickstoffgewinn ermittelt werden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Arnaudi, C., Sur les microbes fixateurs de l'azote dans les terrains de rizière. (Soc. Intern. di Microbiol., Boll. della Sez. Italiana. Vol. 4. 1932. p. 494—498.)

Es handelt sich um eine mikrobiologische Untersuchung von zur Zeit der Probeentnahme trocken liegenden Reisfeldern. Zählungen nach verschiedenen Methoden ergaben, daß die Böden verhältnismäßig arm sind an Zellulosezersetzern der Gruppe Cytophaga und an Azotobacter, dagegen ziemlich reich an Clostridiumformen. Später sollen diese Befunde verglichen werden mit den Ergebnissen gleicher Untersuchungen an Bodenproben derselben, aber überschwemmten Felder. Bortels (Berlin-Dahlem).

Simon, K., Beiträge zur unterscheidenden Charakterisierung von Huminsäuren und alkalilöslichen Ligninen. (Ztschr. f. Pflanzenern., Düngg. u. Bodenk. A. Bd. 27. 1932. S. 129 ff.)

Durch Anwendung kalkfällender Alkalisalze konnte Verf. den Humuskomplex vom Kalk trennen, ohne daß störende Umwandlungserscheinungen auftraten, wie sie bei Anwendung starker Alkalien unausbleiblich sind. Mittels „sodaliefernder Systeme" gelang des weiteren die Herauslösung von Humo-Ligninsäure. Zum Schluß folgt eine Gegenüberstellung der gefundenen Ergebnisse und der Arbeiten von Sven Odén, U. Springer, S. A. Waksman, W. Großkopf, R. Falck u. a.

Limbach (Leipzig).

Fehér, D., Die Verwendung der elektrometrischen p_H-Messung zur quantitativen Ermittlung der Keimzahl der Böden. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 257—270.

Verf. hatte früher gefunden, daß in feuchtem Zustand aufbewahrter Boden dauernd Schwankungen in seiner p_H-Zahl aufweist, die er auf Mikroorganismentätigkeit zurückführte. Diesen Umstand benutzt er nun zur Ermittlung der Keimzahl mit Hilfe des Verdünnungsverfahrens: Mit sterilisiertem Boden-Sand-Gemisch (1 : 1) gefüllte Reagenzgläser werden mit den verschiedenen Verdünnungen einer Aufschwemmung des zu untersuchenden Bodens geimpft. Nach einiger Zeit wird das p_H des Bodens dieser Röhrchen gemessen. Soweit eine Entwicklung von Mikroorganismen stattgefunden hat, schwanken die Werte. Da wo sie bei den höheren Verdünnungen anfangen konstant zu bleiben, liegt die Grenze einer durch die Verdünnung ermöglichten Mikroorganismenentwicklung. Auf diese Weise kann Verf. noch bei 1—2 weiteren Verdünnungen erfolgte Infektion nachweisen, wenn der Nachweis mit Hilfe des Plattenverfahrens nicht mehr gelingt. Der Wert der Methode liegt darin, daß auf diese Weise die Feststellung der Infektion mit Hilfe von Platten nicht mehr nötig und das Verfahren den natürlichen Verhältnissen angepaßter ist.

Zum Grundsätzlichen über die Ansicht des Verf.s, daß die Schwankungen der p_H-Werte durch die Tätigkeit von Mikroorganismen verursacht seien, vergleiche man indessen die gleichzeitigen Ausführungen von Deines und Kleinschmit. Rippel (Göttingen).

Deines, G. und Kleinschmit, R., Mikrobiologische oder physiko-chemische Gründe für die Schwankung der Säuregradzahlen (p_H) in Böden? (Arch. f. Mikrobiolog. Bd. 4. 1933. S. 271—279.)

Die Verff. kommen, im Gegensatz zu Fehér, zu gleichmäßigen p_H-Werten bei Aufbewahrung feuchten Bodens, der allmählich austrocknet. Der Grund ist der, daß Fehér bei der p_H-Bestimmung stets den Boden in einem starren Verhältnis zu Wasser untersucht, im feuchten Boden also ein anderes Verhältnis der Bodentrockenmasse zum vorhandenen Wasser vorliegt als bei einem trockeneren Boden, der im Versuch bereits Wasser verloren hat; hierdurch ändert sich der p_H-Wert. Verff. geben ein Verfahren an, zu einem immer gleichen Verhältnis zu kommen. Jedenfalls bezweifeln sie die Gültigkeit der Versuche Fehérs einer mikrobiologisch bedingten Veränderung des p_H-Wertes eines Bodens bei feuchter Aufbewahrung, solange die erwähnte Fehlerquelle nicht berücksichtigt ist.

Weiter zeigte sich, daß die p_H-Werte auch reproduzierbar sind, wenn nämlich der Boden bei Zimmertemperatur schnell (innerhalb 3—6 Tagen bei Mineralböden) lufttrocken wird, so daß also der Boden nicht in naturfeuchtem Zustande untersucht zu werden braucht. Das ist wegen der Möglichkeit des Absiebens und homogener Mischung von Wert. Auch kann der Boden sterilisiert werden, allerdings nicht in feuchtem Zustande, sondern wenn er nach einem von Pistor angegebenen Verfahren im Vakuum (bei 30° C, 25 mm Druck, trockener Luftstrom) getrocknet, dann bei 105° C ½ Stunde erhitzt wird. Auch bei nochmaliger Anfeuchtung und Wiederholung der Prozedur (auch zum dritten Male) war keine Änderung in p_H-Wert und Titrationsazidität festzustellen. Rippel (Göttingen).

Jaenicke, M., Herstellung von einwandfreiem Trinkwasser mit „Carbosteril". (Gesundheitsing. 1932. S. 585 ff.)

Für Verbraucher, welche noch nicht an moderne Wasserversorgungen angeschlossen sind, empfiehlt Verf. zur Erzielung eines einwandfreien Trinkwassers folgendes Verfahren: Kombinierte Anwendung von Aktivkohle und Chlor zur Entkeimung und geruchlich-geschmacklichen Verbesserung des Wassers, zusammen mit einem Tauchfilter. Dieses Aggregat wurde unter dem Namen „Carbosteril" in den Handel gebracht; seine Anwendung wird ausführlich beschrieben. Das Verfahren eignet sich sowohl für die Aufbereitung kleinerer Wassermengen (für Reisen, Expeditionen, Siedlungen, Einzelhaushalte) wie auch größerer Quantitäten (Hotels, Schiffe, vornehmlich in den Tropen). Limbach (Leipzig).

Schmitz-Lenders und **Jung,** Versuche des Niersverbandes zur elektrischen Abwasserreinigung. (Gesundheitsing. 1932. S. 638—641.)

Da sich im Gebiete des genannten Verbandes die biologischen Verfahren nicht rentierten, stellte man Versuche über die Anwendung der Elektrolyse zur Abwasserreinigung an, die gute Erfolge aufwiesen. Beim Durchlaufen des Stromes durch die ungereinigten Abwasser geht vornehmlich Eisen in Ionenform über; im Anschluß hieran bilden sich Fe-Hydroxyde, welche ausflocken und beim Absetzen die Schwebestoffe mit sich reißen. Das geklärte Abwasser weist nur noch geringe Fäulniskraft auf. Der Reinigungseffekt ist ungefähr der gleiche wie bei Anwendung von chemischen Mitteln; gegenüber der Belebtschlammethode bleibt das Verfahren in seiner Leistung etwa um ein Drittel zurück. Limbach (Leipzig).

Müller, R., „Fischsterben durch Schlammfäulnis im Winter." (Gesundheitsing. H. 52. 1932. S. 624.)

Auf einem Landgut im Bezirk Köln gab es in zwei aufeinanderfolgenden Wintern Fischsterben in zwei Teichen, die von einem Rinnsal durchlaufen werden. Hand in Hand damit gingen starke Geruchsbelästigungen auf Grund von Fäulnisvorgängen im Wasser, die gerade in der kälteren Jahreszeit auffallend waren. Das als Ersatz für abgegrabenes Quellwasser aus einer benachbarten Braunkohlengrube gepumpte Grundwasser war stark getrübt und erhielt in zwei den beiden genannten Teichen vorgeschalteten Teichen nur ungenügende Klärung.

Die Untersuchung ergab, daß die anaerobe Zersetzung der zahlreichen im Teichschlamm lagernden Blätter die Ursache des Fäulnisgeruches war, der naturgemäß erst im Winter auftrat, da die im Herbst eingefallenen Blätter erst nach und nach luftdicht eingebettet wurden. Verf. vermutet, zumal der Winter ziemlich mild war und die Temperatur des Bodenschlammes kaum unter 4° sank, eine Selbsterwärmung in dem gärenden Blätterschlamm durch die anaeroben Bakterien.

Den weiteren Inhalt der Arbeit bilden Ausführungen über die vermutlichen Beziehungen zwischen der Schlammablagerung und dem Fischsterben, wobei u. a. die Tatsachen zu berücksichtigen sind, daß durch den eingebrachten Braunkohlenschlamm die Sauerstoff spendenden grünen Pflanzen im Teiche ausgeschaltet sind und eine sich auch durch aufsteigende Gasblasen und Gestank anzeigende Sauerstoffverminderung und Giftwirkung durch Auftreten von Schwefelwasserstoff erfolgten, Erscheinungen, die auch anderweitig — es werden Beispiele gegeben — mit in erster Linie für Fischsterben verantwortlich zu machen sind. Der mit 1,7 mg/l festgestellte Sauerstoffgehalt des Teiches ist für Fische an sich schon sehr bedenklich und wird im vorliegenden Falle im Verein mit der Wirkung giftiger Stoffe das Fischsterben veranlaßt haben. H. Helfer (Berlin-Lichterfelde).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Fischer, Robert, Über den Einfluß des jährlichen Witterungsverlaufes auf die Frequenz von Pflanzenkrankheiten. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 55—74, 7 Abb.)

Auf Grund der an die Wiener Bundesanstalt für Pflanzenschutz in den Jahren 1927—1931 eingesandten Proben erkrankter Pflanzen und der meteorologischen Angaben der Wiener Wetterwarte zieht Verf. Schlüsse auf die Abhängigkeit der parasitären und nichtparasitären Krankheiten von der Witterung. Bakteriosen und Erkrankungen durch Botrytis cinerea waren in niederschlagsreichen Spätsommern besonders häufig. Exoascus deformans trat nach einem milden Winter sehr stark auf, fehlte aber ganz nach einem strengen Winter; das in den Knospen überwinternde Myzel ist offenbar tiefen Temperaturen gegenüber empfindlich.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Neuweiler, E., Der Kartoffelkrebs in der Schweiz. (Landw. Jahrb. Schweiz. Jahrg. 46. 1932. S. 680—688, 1 Karte.)

Nach der Einschleppung in die Schweiz im Jahre 1925 war es gelungen, durch energische Maßnahmen die wenigen vorhandenen Herde zu tilgen. Im Jahre 1931 trat aber die Krankheit, wie nachgewiesen werden konnte, infolge neuer Einschleppung an vielen Orten auf, so daß man sich gezwungen sieht, den Schweizer Kartoffelbau auf krebsfeste Sorten umzustellen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Friedrichs, G., Die Bestimmung des Bestäubungsgrades trockengebeizten Saatgetreides bei der Lohnbeizkontrolle. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 13. 1933. S. 25—27.)

Verf. beschreibt die bei der Hauptstelle für Pflanzenschutz in Münster für die Feststellung der Stärke des Beizbelages zur Kontrolle der Lohnbeizstellen gebräuchlichen Methoden. Das Differenzierungsverfahren schließt sich eng an das früher beschriebene Verfahren mit Testreihen an. Zunächst wird die eingesandte Probe, nachdem das lose anhaftende Beizpulver entfernt ist, mit einer Probe desselben Saatgutes, das mit der für die betreffende Getreideart vorgeschriebenen Beizpulvermenge im Kolben gebeizt ist, verglichen. Ist der Belag der eingesandten Probe deutlich schwächer als der im Kolben gebeizte, so wird eine weitere Probe im Kolben mit 75% der vorgeschriebenen Menge gebeizt. Ist die eingesandte Probe auch noch schwächer als diese bestäubt, so wird die Bestäubung als ungenügend angesehen. Eine Überbeizung wird dann angenommen, wenn die eingesandte Probe stärker als eine mit 125% der vorgeschriebenen Menge im Kolben gebeizte Probe ist. Das kolorimetrische Verfahren von Verhoeven wurde mit dem Präparat Ceresan B. S. durchgeführt, das neben einem in Wasser hellblau löslichen Farbstoff noch einen in Alkohol löslichen tiefblauvioletten Farbstoff enthält. Zur Feststellung des Beizbelages werden Proben des gebeizten Saatgutes mit Alkohol abgeschüttelt, filtriert und mit solchen verglichen, die wie beim Differenzierungsverfahren mit 75% bzw. 100% der vorgeschriebenen Beizpulvermenge gebeizt sind. Nach Angabe des Verf.s lassen sich beim Differenzierungsverfahren bei Roggen und Weizen Unterschiede von 0,2 : 1000, bei Gerste und Hafer solche von 0,4 : 1000 feststellen. Bei dem kolorimetrischen Vergleichsverfahren lassen sich Unterschiede von 0,2 : 1000 sicher, oft solche von 0,1 : 1000 nachweisen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Jørgensen, C. A., Prüfung von Boden-Desinfektionsmitteln. [Afprøvning af Jorddesinfektionsmidler.] (Tidsskrift for Planteavl. Bd. 39. 1933. S. 316—333.)

Verf. prüfte eine Anzahl Boden-Desinfektionsmittel auf ihre Wirksamkeit gegenüber Pythium Baryanum, Rhizoctonia solani und Plasmodiophora brassicae. Die benutzten Mengen sind auf 1 qm Bodenfläche bezogen. Karbolsäure (250 g auf 10 l Wasser) und Formalin (250 g auf 10 l Wasser) wirkten ausgezeichnet gegen Pythium Baryanum und Plasmodiophora brassicae, versagten aber gegen Rhizoctonia solani. Sublimat (3 g + 30 g Salpeter auf 6 l Wasser) wurde dagegen mit Erfolg gegen Rhizoctonia solani angewandt, war aber gegen Pythium Baryanum ziemlich wertlos. Um eine allseitige Wirkung zu erzielen, sind Karbolsäure oder Formalin und Sublimat anzuwenden. Die von verschiedenen Firmen hergestellten Präparate wirkten nicht wesentlich kräftiger oder sicherer als die einfachen Mittel. Uspulun (75 g auf 10 l Wasser) und Germisan (10 g auf 8 l Wasser) hatten einen allseitigen Erfolg gebracht. Gegen Pythium Baryanum wirkten auch Karbolöl I (0,5 kg auf 15 l Wasser), Kerol (40! l einer 0,25proz. Lösung) und Koefoed-Johnsens Bodensterilisator (1 kg) gut; eine etwas schwächere Wirkung hatte Kalkstickstoff (80 g) in Verbindung mit anderen Stickstoffdüngern. Geringen oder keinen Erfolg hatten Alvesco-Präparate, Cektol und Clubicide. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Thiem, H., Ein auswechselbares biologisches Bodensieb. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 33—34.)

Für Untersuchungen von Bodenproben auf Larven und Puppen von Insekten wurde ein Gerät benutzt, das aus 4 Ringen von 32 cm Durchmesser, 4 verschiedenartigen Siebböden, einem Ablauf und einem Dreifuß besteht. Die Ringe 2, 3 und 4 sind 13 cm, Ring 1 ist 10 cm hoch. Alle haben einen unterwärts rechtwinklig nach innen umgebogenen Rand von 1,5 cm Breite. Außerdem haben die Ringe 2, 3 und 4 in 10 cm Höhe einen 1,3 cm breiten, nach innen rechtwinklig ansitzenden Ringel. Die Siebböden sind auf einem 1,2 cm breiten Ring aufgelötet. Zur Abdichtung der Siebböden 3 und 4 (die Siebböden 1 und 2 brauchen keine besondere Dichtung zu erhalten) wird ein längsseits aufgeschnittener Gummischlauch verwandt, wodurch Fehlergebnisse praktisch ausgeschaltet werden. Der Auslauf des Bodensiebes ist trichterförmig gearbeitet. Bei nasser Verwendung wird das Gerät über einen Ausguß gestellt und das Waschwasser mit einem Gummischlauch der Wasserleitung entnommen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Wilcoxon, F., and Hartzell, A., Some factors affecting the efficiency of contact insecticides. III. Further chemical and toxicological studies of Pyrethrum. (Contrib. Boyce Thompson Inst. Vol. 5. 1933. p. 115—127.)

Eine Methode wird beschrieben, wie man Pyrethrine frei von Verunreinigungen auf eine einfachere Weise als früher gewinnt, ohne die Pyrethrine in Derivate umwandeln und später wiederherstellen zu müssen. Das quantitative Verhältnis von Pyrethrin I zu Pyrethrin II ist sehr veränderlich. Versuche über den Giftwert beider (an Aphis rumicis) ergaben, daß P. I viel stärker wirkte als P. II. Die Verff. haben früher nachgewiesen, daß wässerige Giftlösungen in die Tracheen der Insekten nur dann eindringen, wenn Seife oder ein anderes Benetzungsmittel hinzugefügt ist. P. tötet auch, wenn es nicht in die Tracheen eindringt; es wirkt nach inneren Untersuchungen der Verff. hauptsächlich als Nervengift. Es durchdringt das Integument, zum mindesten in gewissen Körperregionen. Die Pyrethrine haben eine geringe aber erhebliche Löslichkeit in Wasser, und hieraus mag sich die innere Wirkung bei äußerlicher Anwendung erklären.

K. Friederichs.

Roark, R. C., The chemical relationship between certain insecticidal species of fabaceous plants. (Journ. econ. Entom. Vol. 26 3. 1933 6. p. 587—594.)

Die Familie der Fabaceen (Leguminosen oder Papilionaceen) enthält 3 Genera, zu denen zahlreiche Arten mit insecticiden Eigenschaften gehören: Derris, Lonchocarpus und Cracca (= Tephrosia). Auch Millettia, Mundulea und Omocarpum sollen Rotenon enthalten. Es werden die Arten dieser 6 Gattungen aufgeführt, welche derartige Eigenschaften haben bzw. denen sie nachgesagt werden. Frühere Versuche haben gezeigt, daß die toxischen Substanzen dieser Pflanzen sehr verschiedenen Giftwert gegenüber Insekten haben, z. B. gegen Blattläuse (Aphis rumicis) Rotenon 400, Deguelin 40, Tephrosin 10, Toxicarol 1. Rotenon hat den 30fachen Giftwert gegenüber Bleiarsenat, ist auch Nikotin überlegen. K. Friederichs.

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Liesau, O. Fr., Zur Biologie von Didymella lycopersici, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 1—40, 12 Abb.)

Verf. beobachtete Didymella lycopersici nicht selten im Freien auf Solanum nigrum und führte, um den Wirtskreis des Parasiten festzustellen, Infektionsversuche mit zahlreichen Solanaceen aus. Außer der Tomate und Sol. nigrum wurden Nicandra physaloides, Physalis forancheti und Atropa belladonna leicht infiziert; nach wiederholten Versuchen gelang es, auch Capsicum annuum, Datura stramonium, Hyoscyamus niger, Petunia hybrida u. a. zu infizieren. Es kann daher nicht wundernehmen, daß sich von den 59 geprüften Tomatensorten auch nicht eine als immun erwies und daß sich auch keine großen Resistenzunterschiede zwischen den einzelnen Sorten zeigten. — Auf Grund von Gewächshaus- und Freilandversuchen kommt Verf. zu dem Schluß, daß man mit kupferhaltigen Spritzmitteln gesunde Pflanzen heranziehen kann, daß aber wegen der Schnellwüchsigkeit der Tomaten die Spritzungen sehr oft wiederholt werden müßten, wenn man die Pflanzen während der ganzen Vegetationsperiode schützen wollte. Durch ausreichende Kalkung wird nicht nur das Wachstum der Pflanze gefördert, sondern auch die saprophytische Entwicklung des Pilzes im Boden gehemmt. N- und P-Mangelpflanzen werden leichter infiziert als normal ernährte. Riehm (Berlin-Dahlem).

Tiddens, Berber, Wortelrot van Primula obconica, veroorzaakt door Thielaviopsis basicola Berk. et Br.) Ferraris. (Wurzelfäule von Primula obconica, verursacht durch Thielaviopsis basicola [Berk. et Br.] Ferraris.) (Diss. Baarn, Hollandia-Drukkerij. 1933. 72 S.)

Verf.n untersuchte die Wurzelfäule der Primula obconica, welche den Züchtern oft großen Schaden zufügt. Bei dieser Krankheit werden zunächst die Wurzeln braun, während allmählich auch der Sproß sich verfärbt, indem er anfangs gelbgrün, später gelb wird. Obwohl die Pflänzchen in den meisten Fällen nicht absterben, sind sie doch für den Züchter immerhin wertlos geworden. Wie auch von anderer Seite schon festgestellt worden war, fand Verf.n ebenfalls in den Wurzeln den Pilz Thielaviopsis basicola. Durch ihre Versuche erbrachte sie den Beweis, daß dieser Pilz, wie bisher nur vermutet, in der Tat die genannte Krankheit verursacht. Die schwarzen Stellen der befallenen Wurzeln enthalten große Massen von den typischen Chlamydosporen, woran der Pilz leicht zu erkennen ist. Die günstigste Temperatur für den Befall ist 20—26° C, bei einem p_H von 6,4. Zufügung von $NaNO_3$, $CaCO_3$, H_2SO_4 oder $(NH_4)_2SO_4$ konnte die Entwicklung der Krankheit nicht verhindern. Die Zusammenstellung der Gartenerde ist von großem Einfluß für die Züchtung: am besten bewährte sich eine Mischung von $1/3$ Gartenerde, $1/3$ mindestens 1 Jahr alter Blatterde, $1/3$ gut präparierter Dünger mit Torfmull und Sand. Überhaupt hat sich herausgestellt, daß Zufügung von Torfmull die Anfälligkeit der Pflänzchen herabsetzt, indem die Erde hierdurch gelockert wird. Kompakte Erde, besonders solche mit Bagger vermischt, begünstigt das Entstehen der Krankheit. Zur Bekämpfung der Krankheit muß zur Sterilisation der Erde übergegangen werden, wozu u. a. Essigsäure, Formalin und Uspulun sich bewährt haben. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Rochlin, E., Zur Frage der Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen die Kohlhernie (Plasmodiophora brassicae Wor). (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 381—406, 7 Abb.)

In Boden, der mit in Wasser zerkleinerten Hernien infiziert war, wurden die verschiedensten Kruziferen ausgesät und die Zahl der erkrankten Pflanzen festgestellt. Die Widerstandsfähigkeit junger Pflanzen ist nicht in irgendeiner Beziehung vom anatomischen Bau der Wurzeln abhängig; bei reifen Pflanzen mit ausgebildeten sekundärem Gewebe erschwert kompaktes Xylem die Ausbreitung des Parasiten, es findet also nur eine lokale Erkrankung statt. — Biochemische Untersuchungen zeigten, daß der Grad der Widerstandsfähigkeit gegenüber Kohlhernie von dem Gehalt an scharfriechenden Senfölen abhängt. So wurde z. B. in Hesperis lutea kein Senföl gefunden, die Pflanzen erkrankten zu 100%; Hesperis alpina, H. fragrans und H. matronalis var. nana wiesen starken Senfölgeruch auf, diese Pflanzen wurden nicht infiziert. Die Verf.n hält es für möglich, daß man durch Kreuzung anfälliger Sorten mit solchen Sorten, die den Schutzfaktor aufweisen, widerstandsfähige Sorten erzielen kann.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Roemer, Th. und Kamlah, H., Gibt es eine selektive Wirkung der Wirtspflanze (Weizen) auf den Pilz (Ustilago)? (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 41—53.)

Die Herkünfte parasitischer Pilze bestehen, wenn sie noch nicht durch Selektionsarbeit gereinigt sind, aus Populationen verschiedener Biotypen oder physiologischer Rassen. Die Wirtspflanze kann auf eine solche Population eine selektive Wirkung ausüben. Durch mehrmalige Passage derselben Sorte wird eine Veränderung der Population herbeigeführt. Eine Ustilago tritici-Population, die hohen Befall von Grüner Dame und Peragis, aber geringen Befall von Hohenheimer und Rimpaus rotem Schlanstedter ergab, verhielt sich nach einmaliger Passage durch Rimpaus roten Schlanstedter umgekehrt. — Durch Kreuzung gelang es, Sommerweizenstämme zu schaffen, die gegen 2 Flugbrandrassen immun waren.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 323—342, 5 Abb.)

Weizenpflänzchen wurden mit einer Sporenaufschwemmung von Puccinia triticina bestrichen, 2 Tage in feuchter Luft gehalten und dann umgekehrt aufgestellt, so daß die Blätter in Gefäße mit Mineralsalzlösungen tauchten. In diesen Lösungen blieben die Blätter 12 Std., wurden dann in Wasser abgespült und nach Verlauf von weiteren 12 Std. abermals 12 Std. eingetaucht. Das Verfahren wurde viermal ausgeführt, dann blieben die Pflanzen im Gewächshaus stehen. In Übereinstimmung mit ihren früheren Bodendüngungsversuchen fanden die Verff., daß Kali und Phosphorsäure rosthemmend, Stickstoffsalze rostfördernd wirken.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 27. September 1933.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 8/12.
Ausgegeben am 23. November 1933.

Wachstumsverlauf von Actinomycetenstämmen und seine quantitative Bestimmung auf verschiedenem Kartoffelnährsubstrat.

[Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle a. d. S. Direktor: Professor Dr. Th. Roemer; Abteilung für Pflanzenernährungslehre und Mikrobiologie. Leiter: Priv.-Doz. Dr. F. Scheffer.]

Von **L. E. Kießling.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Die zu den Actinomyceten gehörenden niederen Lebewesen sind in der Natur weit verbreitet und nach vielen übereinstimmenden Forschungen kommen manchen unter ihnen auch pathogene Eigenschaften gegenüber Mensch, Tier und Pflanze zu, weshalb ein gründliches Studium dieser Organismengruppe angezeigt ist. Bis in die neueste Zeit herein wurden diese Pilze nur zeitweise bearbeitet und erst die in größeren Zwischenräumen aufeinanderfolgenden Arbeiten von Rullmann (1), Neukirch (2), Salzmann (3), Fousek (4), Beijerinck (5), Krainsky (6) und einigen anderen, von Ende des vergangenen Jahrhunderts bis 1914, regten zu eingehender Forschungsarbeit auf diesem Gebiete an. So folgten jetzt — um nur einige herauszugreifen — die Arbeiten von Münter (7), Waksman und seinen Mitarbeitern (8), Lieske (9), Wollenweber (10) und vielen anderen. Besonders die Amerikaner waren es, die sich eingehend mit der landwirtschaftlichen Bedeutung der Actinomyceten in der Natur sowie der laboratoriumsmäßigen Erforschung ihrer physiologischen Eigenschaften beschäftigten. Die deutschen Forscher, von denen nur Münter und Lieske genannt seien, stellten mehr die morphologischen Eigenschaften dieser Organismen und gleichzeitig auch die Ernährungsphysiologie sowie den Einfluß der Umweltsfaktoren auf die Entwicklung der Strahlenpilze in den Vordergrund ihrer Forschungen. Die pflanzenpathogenen Eigenschaften verschiedener Vertreter dieser Organismengruppe bildeten bald einen eigenen Wissenszweig im Rahmen der Pflanzenkrankheiten, und bei Aufhellung dieser Zusammenhänge haben die verschiedensten Forscher der gesamten Kulturwelt Anteil. Der Kartoffelschorf erregte naturgemäß wegen seiner großen praktischen Bedeutung besonderes Interesse. Diese Frage hat auch heute noch nicht an Bedeutung verloren, da die Marktfähigkeit gerade unserer besten Konsumkartoffeln durch diese Krankheit erheblich beeinträchtigt wird. Zwar gelang es der Pflanzenzüchtung in zielbewußter Arbeit, durch geeignete Kreuzungen und Selektion, schorfwiderstandsfähige Sorten auf den Markt zu bringen, doch wurde noch keine widerstandsfähige Sorte gezüchtet, die z. B. an die Qualität der „Industrie" heranreicht.

Es ist daher natürlich, daß sich die Mikrobiologen, wie Wollenweber, **Sanford** (12) und viele andere mit dem Erreger des Kartoffelschorfs be-

faßten. Nebenher laufen auch seit einiger Zeit Arbeiten, die sich mit der Prüfung der Kartoffelsorten bezüglich ihres Verhaltens gegenüber diesem Krankheitserreger eingehend befassen. Es ist hier nicht beabsichtigt, über die auf diesem Gebiete im Laufe der Jahre veröffentlichten Arbeiten zu referieren, und es sei daher auf die Zusammenstellung der wichtigsten Literatur bei Wollenweber (11) verwiesen.

In der vorliegenden Arbeit wurde nun versucht, eine Kulturmethode für die Actinomyceten zu finden, die es gestattet, diese Lebewesen als Testobjekte für die stoffliche Zusammensetzung der Preßsäfte gewisser Pflanzengruppen und ihrer Veränderungen heranzuziehen. Unter der „stofflichen Zusammensetzung" sind hier nur „Stoffgruppen" zu verstehen, die auf chemisch-analytischem Wege vielleicht nur mühsam und auch nicht in ihrer charakteristischen Art erfaßt werden können. Es sollte aber auch nicht versucht werden, eine chemisch eindeutige Definition dieser „Stoffgruppen" zu geben, sondern es sollte geprüft werden, ob Strahlenpilze auf Grund ihres Wachstums und ihrer Wachstumsintensität in der Lage sind, Unterschiede zwischen den Sorten einer Pflanzenart anzuzeigen. Ferner war es von Interesse, festzustellen, ob diese auf solche Weise ermittelten „Sorteneigentümlichkeiten" auch als konstant anzusehen sind und gegebenenfalls als „mikrobiologische Pflanzen-Analyse" zur Unterscheidung einzelner Sorten herangezogen werden könnte.

Diese Theorie war auf die Tatsache aufgebaut, daß die in der bakteriologischen Arbeitsmethodik zu diagnostischen Zwecken gerne verwendeten Kartoffelnährböden (als Kartoffelstückchen oder dgl.) — nach Berichten aus der Literatur und auch aus eigener Erfahrung — je nach den zu den Untersuchungen zur Verfügung stehenden Kartoffeln in manchen Fällen Unterschiede in der Entwicklung der zu prüfenden Mikroben aufweisen. So berichten z. B. Lehmann und Neumann (13), daß Bac. asterosporus auf verschiedenen Kartoffeln unterschiedliche Wachstumsbilder liefert. Die genannten Autoren berichten ferner von Bact. typhi, daß sich auf der Kartoffelkultur ein äußerst zartes Häutchen bildet, das man lange Zeit als eines der wichtigsten spezifischen Merkmale dieses Mikrobiums hielt. Späterhin fand man jedoch, daß dieses Kennzeichen manchen Typhusrassen überhaupt fehlt, oder daß auf sauren Kartoffeln ein typisches, auf alkalischen oder alkalisierten Kartoffeln ein atypisches Wachstum zu beobachten ist. Beobachtungen in ähnlichem Sinne liegen auch für Bact. pyocyaneum und anderen vor, weshalb es notwendig erschien, die durch die einzelnen Kartoffelsorten bewirkten Unterschiede im Mikrobenwachstum experimentell mit Hilfe von Actinomyceten festzulegen.

Schwierigkeiten bereitete zu Beginn der Untersuchungen die Auswahl der Strahlenpilzstämme und der geeigneten Nährlösung. Zu diesem Zwecke wurde eine Anzahl von Versuchen angestellt, über die aus Gründen der Raumersparnis nur kurz berichtet werden soll.

I. Die Auswahl der Actinomyces-Stämme.

Die im ersten Teile der Arbeit zur Kultur herangezogenen Stämme: A, B, C, D, E und F entstammen der Erde eines gut verrotteten Komposthaufens, während die Kulturen von Act. scabies, A. chromogenes,

A. setonii, A. flavus und Nocardia odorifera aus dem Zentralbüro für Pilzkulturen in Baarn bezogen waren. Die Stämme 17 und 22 waren zwei von Wingerberg (14) von schorfigen Kartoffeln isolierte Strahlenpilze. Von den selbst aus Kompost isolierten Stämmen wurden hauptsächlich wiederum Stamm A und B wegen ihrer Raschwüchsigkeit, ihrer reichlichen Ausbildung von Luftsporen und ihrer charakteristischen Unterschiedlichkeit während des Wachstums zu den Untersuchungen in größerem Umfange herangezogen. Es seien deshalb die Wachstumsbilder dieser beiden Actinomyceten auf den verschiedenen gebräuchlichen Nährböden und ihre wesentlichsten physiologischen Eigenschaften bei einer Bruttemperatur von 27° C nachfolgend kurz zusammengestellt. Eine eingehende morphologische Differenzierung unterblieb wegen der bisher noch bestehenden Schwierigkeiten einer Einordnung der Strahlenpilze in ein feststehendes System.

Stamm A.

Er zeichnet sich durch die Produktion eines intensiven Erdgeruches aus.

Haferflocken-Agar (neutral): Bereits nach 2 Tagen dünne, rein weiße Auflage. Nach 7 Tagen beginnt die Abschnürung einer großen Menge grauschwarzer, krümelig-locker aufsitzender Luftsporen. Zu dieser Zeit verfärbt sich auch die Unterlage zitronengelb. Dieser Farbstoff diffundiert dann allmählich in die benachbarten Agarschichten. (Diese Eigenschaft bezeichnet man als chromogen.)

Gelatine wird verflüssigt.

Kartoffeln: Nach 48 Std. üppiges Wachstum, rein weiß, erhaben, trocken. Nach 6 Tagen trockenes, graues, sehr erhabenes Sporenpolster. Das Wasser unter den Kartoffelstückchen ist gelblich verfärbt, ebenso die Kartoffel selbst.

Kartoffelsaft-Agarstrich ($p_H = 6{,}2$): Nach 6 Tagen sehr üppige trockene Auflage mit dunkelgrauen Sporen. Ein schmaler Rand des Striches und einzelne Kolonien bleiben rein weiß.

Kartoffelsaft-Agarstrich ($p_H = 8{,}2$): Wie bei $p_H = 6{,}2$, nur wenig schwächeres Wachstum, Sporen etwas heller graubraun, weißer Rand des Striches etwas breiter.

Fleisch-Pepton-Agar ($p_H = 4{,}42$): Kräftiges, aber schleimigglänzendes Wachstum. Die Randpartien bilden grauweiße Sporen aus.

Fleisch-Pepton-Agar ($p_H = 8{,}2$): Ebenfalls kräftiges Wachstum, jedoch nicht schleimig, sondern trocken und kreidig weiß. Unterseite des Mycels gelb.

Hefewasser-Agar ($p_H = 7{,}1$): Anfangs schwache, feuchtglänzende grauweiße Auflage. Nach 6 Tagen sehr kräftiges Wachstum mit graubraunem Sporenrasen. Agar nicht verfarbt.

Bromthymolblau-Agar: Wachstum nach 2 Tagen schwach und glasig durchscheinend, nach 6 Tagen das Wachstum noch schwach nicht zusammenhängend, mit weißen und graubraunen Luftsporen. Unterseite des Pilzrasens grün. Nährboden blau.

Gaßners Dreifarben-Nähragar ($p_H = 7{,}1$): Bereits nach 48 Std. ziemlich kräftiges Wachstum von weißer, krümeliger Struktur Der Nährboden verfärbt sich hellgrün. Nach 6 Tagen ist die Unterseite der Pilzauflage gelbgrün verfärbt.

Fleisch-Bouillon ($p_H = 7{,}5$): Mäßiges Wachstum, rein weiße schwimmende Inseln, teils am Glasrand festhaftend. Flockiger, weißer Bodensatz.

Kartoffelsaft-Nährlösung ($p_H = 6{,}2$) (Herstellung s. Text): Anfänglich weißgraues, aus einzelnen Kolonien zusammengesetztes Wachstum am Glasrand, dann ganze Oberfläche der Flüssigkeit mit dickem, bruchigem Mycel überzogen. Unterseite des Mycels gelb. Flüssigkeit klar.

Milchzucker-Bouillon ($p_H = 7{,}57$): Oberflächliches weißes Mycelhäutchen mit grauen Sporeninseln. Bodensatz weiß, wolkig. Flüssigkeit klar.

3proz. Malzextrakt-Lösung ($p_H = 7{,}47$): Ähnlich dem Wachstum bei Milchzucker-Bouillon, jedoch nahezu vollständig mit Sporen besetzt. Fast kein Bodensatz. Lösung klar.

Hefewasser ($p_H = 7{,}17$): Sehr kräftiges Wachstum, aber nur am Glasrand. Es bildet sich nach 6 Tagen ein etwa 0,75 cm hohes „Band“, das mit dunkelgrauen Sporen besetzt ist. Lösung klar, etwas weißer Bodensatz.

Milch: Nach 2—3 Tagen beginnt in den obersten Schichten die Aufhellung.

Die Milch koaguliert bei schwach alkalischer Reaktion. Die Aufhellungsschicht ist rosarot. Die vollständige Aufhellung von 10 cm Milch ist nach etwa 4—5 Wochen vollzogen. Es bleibt eine rosarote Gallerte zurück.

Aeskulin-Bouillon ($p_H = 6,2$): Die Lösung färbt sich tiefschwarz und wird undurchsichtig. (Bildung von Aeskuletin, das mit Fe-Zitrat schwarz wird.) Kräftiges Wachstum am Glasrand.

Stamm B.

Dieser Stamm zeigt keinerlei Erdgeruch. Er ist ausgezeichnet durch die Bildung eines intensiv dunkelbraunen Farbstoffes, den er in das Nährmedium in großer Menge abgibt und wäre deshalb wohl in die Reihe der Act. chromogones einzugliedern. Sporen weiß bis hellbraun.

Haferflocken-Agar (neutral): Nach 2 Tagen weiße Auflage. Etwa vom 7. Tage ab Bildung des dunkelbraunen Farbstoffes, der allmählich den gesamten Nährboden intensiv verfärbt.

Gelatineverflüssigung war kurz nach der Isolierung aus dem Boden stark vorhanden. Nach 1½jähriger Kultur auf Haferflocken-Agar — bei einer etwa alle 4 Wochen sich wiederholenden Überimpfung — war diese Eigenschaft erheblich schwächer geworden.

Kartoffeln: Nach 2 Tagen saftig glänzende, üppige graubraune und erhabene Auflage. Kartoffel tiefbraun. Nach 6 Tagen üppige, wulstig erhabene Auflage, saftig glänzend. An den eintrocknenden Stellen der Kartoffel bilden sich rein weiße Sporen. Die Flüssigkeit in der Kuppe des Reagenzglases dunkelbraun. In dieser Flüssigkeit ebenfalls Wachstum von Kolonien, hauptsächlich am Glasrand.

Kartoffelsaft-Agar ($p_H = 6,2$): Nach 2 Tagen sehr üppiges Wachstum, saftig glänzend und braun, ohne Sporen. Nach 6 Tagen ist das Bild fast unverändert, nur vereinzelte Inseln mit weißen Luftsporen.

Kartoffelsaft-Agar ($p_H = 8,2$): Erheblich schwächeres Wachstum als bei A, saftig glänzend, braun, ohne Sporen.

Fleisch-Pepton-Agar ($p_H = 4,42$): Nach 2 Tagen kräftiges Wachstum. Schleimige, graubraune Auflage. Der braune Farbstoff diffundiert bereits nach dieser kurzen Kulturperiode in den Nährboden (brauner Hof). Das Wachstumsbild ändert sich bei längerer Kulturdauer fast nicht.

Fleisch-Pepton-Agar ($p_H = 8,2$): Sehr schwache, kaum zu beurteilende Auflage, jedoch deutliche Braunfärbung der Unterlage.

Hefewasser-Agar ($p_H = 7,1$): Nach 6 Tagen sehr üppiger, saftiger und wulstiger Mycelrasen. Agar tief dunkelbraun.

Bromthymolblau-Agar: Bedeutend kräftigeres Wachstum als A. Schleimig erhaben, am Rande weiße Luftsporen-Inseln, Unterseite intensiv gelbgrün, Nährboden blau.

Gaßners Dreifarben-Nähragar ($p_H = 7,1$): Ziemlich schwaches Wachstum, schleimige, glasige und erhabene Auflage. Unterseite der Auflage in der Jugend hellgelb, späterhin mattgrün, Nährboden in der weiteren Umgebung normal dunkelgrün.

Fleisch-Bouillon ($p_H = 7,5$): Nach 6 Tagen mäßiges Wachstum, jedoch deutliche weißgraue, schwammige Haut, weniger Bodensatz als bei A. Flüssigkeit gleichmäßig hellbraun verfärbt.

Kartoffelsaft-Nährlösung ($p_H = 6,2$): Rasch wachsend; zunächst weißer Ring am Glasrand, der in einigen Tagen ziemliche Dicke annimmt. Oft wird die Flüssigkeit mit einer dicken kreideweißen Mycelschicht überzogen.

Milchzucker-Bouillon ($p_H = 7,5$): Wachstumsbild wie bei A; die Flüssigkeit wird schwach bräunlich.

3proz. Malzextrakt-Lösung ($p_H = 7,47$): Nach 6 Tagen auf der Oberfläche schwimmendes Häutchen, grauweiß gefärbt. Wachstum kräftiger als bei A. Nahezu kein Bodensatz, Lösung bleibt klar und wird nicht verfärbt.

Hefewasser ($p_H = 7,17$): Sehr kräftige Mycelentwicklung; Mycel am Glasrand festhaftend uud besät mit weißen Sporen. Tief dunkelbraunes Pigment wird in die Lösung abgegeben (nach 6 Tagen sind etwa 3 cm der Lösungsschicht verfärbt).

Milch: Milchveränderungen wie bei A, nur ist die Aufhellungszone und der gelatinöse Rückstand dunkelbraun verfärbt.

Aeskulin-Bouillon ($p_H = 6,2$): Wie bei A.

Die Veränderungen der H-Ionenkonzentration der Kulturflüssigkeiten nach 7täg. Wachstum der beiden Stämme sind in nachfolgender Tabelle 1 zusammengestellt.

Tab. 1. Veränderungen der Reaktion durch die Stämme A und B. (Nach 7tägigem Wachstum.)

Nährlösung	Anfangs-p_H	End-p_H A	End-p_H B
Fleisch-Bouillon	7,5	8,35	8,4
Kartoffelsaft-Nährlösung	6,2	7,9	8,4
Milchzucker-Bouillon	7,5	8,2	—
3proz. Malzextrakt-Lösung	7,47	**5,5**	**5,5**
Hefewasser	7,17	7,6	7,9
Aeskulin-Bouillon	6,2	6,4	6,6

Bemerkenswert ist die mehr oder weniger starke Alkalisierung der Nährflüssigkeiten mit Ausnahme der 3proz. Malzextraktlösung, hier ist eine Säureproduktion festzustellen.

Zahlenangaben über die Stärke der Ammoniakbildung der beiden Stämme A und B werden in späteren Kapiteln gebracht.

Auf die in großer Zahl angelegten Versuchsreihen mittels der verschiedensten synthetischen Nährlösungen soll hier aus Raumgründen nicht eingegangen werden. Diese Versuche sind auch als Vorversuche zu werten und ihre Ergebnisse befriedigten nicht immer. Die erlangten Befunde lassen sich wie folgt kurz zusammenfassen:

Die Entwicklung der hier geprüften Strahlenpilzstämme war meist sehr schwach und in vielen Fällen auch innerhalb der Kontrollen ungleichmäßig. Auffallend fördernd auf Eintreten und Verlauf der Actinomyceten-Entwicklung wirkte z. B. ein Zusatz von Diastase (Merck) zum synthetischen Nährsubstrat. Weiterhin trat der günstige Einfluß von Pepton (Witte) für die Ernährung dieser Organismen deutlich zutage, was schon von Lieske und anderen festgestellt worden war. Lieske (9) hat gefunden, daß die besten N-Quellen für die Strahlenpilze der Harnstoff, das Pepton und das Menschenblutserum sind. Aus einer späteren Versuchsreihe (S. 183) geht jedoch hervor, daß bei den geprüften Stämmen in peptonhaltigen Nährlösungen Ammonnitrat besser verwertet wird als eine gleich hohe Harnstoffgabe. Aus den Vorversuchen ging auch hervor, daß die Art und Menge der zum Nährsubstrat zugegebenen C-Quelle einen Einfluß auf das Actinomyceten-Wachstum ausübt.

Methodik der Beurteilung der Pilzentwicklung.

Die Beurteilung des Mycelwachstums erfolgte nicht durch subjektive Schätzung der entwickelten Pilzmassen, sondern durch Wägung. Der Inhalt von drei jeweils zusammengehörigen Kontrollkölbchen wurde — nach Loslösen der am Glasrand festhaftenden Mycelstückchen — durch einen vorher gewogenen Wattebausch filtriert. Die Trocknung des Wattebausches mit dem Mycel erfolgte bei 105° C (bei langsam ansteigender Temperatur während 20 Std.). Die in nachfolgenden Tabellen wiedergegebenen Zahlen bedeuten also das Mycelgewicht in Gramm von je drei zusammengehörigen Kontrollen oder auch den Mittelwert aus 2 × 3 Mycelen.

II. Versuche mit Säften aus Kartoffelknollen.

Da, wie vorher erwähnt, die synthetischen Nährlösungen immer nur ein verhältnismäßig geringes Actinomyceten-Wachstum zeigten und auch Stroh-Abkochungen keine besonders guten Ergebnisse lieferten, so wurden Kartoffelpreßsäfte als Nährstoffquelle für diese Pilze verwendet. Zu den ersten Untersuchungen wurden die Stämme Act. scabies und die von schorfigen Kartoffeln isolierten Pilze Nr. 17 und 22 verwendet.

Die Herstellung der Kartoffelsäfte.

Die Kartoffelknollen wurden in Leitungswasser und destilliertem Wasser gewaschen und samt der Schale im „Fleischwolf" zerkleinert. Durch Auspressen des zerkleinerten Materials in einem Leinwandtuch erhält man einen dickflüssigen Saft, den man in weiten Glasgefäßen sammelt und einige Stunden stehen läßt. Dadurch setzt sich ein großer Teil der Stärke und sonstiger gröberer Partikeln ab. Durch vorsichtiges Abgießen des überstehenden Saftes trennt man die Stärke ab und erhitzt dann etwa 1 Std. im Autoklaven bei strömendem Dampf. Beim Erhitzen wird das koagulierbare Eiweiß im Saft ausgeflockt und kann durch Filtration — zuerst durch Watte und dann durch ein engporiges Faltenfilter — abgetrennt werden. Der Saft ist nun zur Verarbeitung fertig und wurde, falls er nicht sofort zur Actinomycetenzüchtung Verwendung fand, in mit Wattestopfen versehenen Erlenmeyerkolben an drei aufeinanderfolgenden Tagen bei 100° C sterilisiert.

Zu den nachfolgenden Versuchen wurden jeweils 10 ccm des so vorbehandelten Saftes in dreifacher Wiederholung in 100 ccm fassende Erlenmeyerkolben einpipettiert und dazu 20 ccm folgender Nährlösung I zugegeben:

I. 5,0 g Glukose — 0,5 g KNO_3
5,0 g lösliche Stärke — 0,5 g $MgSO_4$
5,0 g Pepton (Witte) — 0,5 g $NH_4H_2PO_4$
1,0 g Diastase — 0,5 g K_2CO_3
1000 ccm aq. dest.

Im Vergleich zu dieser Versuchsanordnung wurden die drei Actinomyceten auch in 30 ccm der reinen Nährlösung verimpft, also ohne Zugabe von Kartoffelsaft. Die Preßsäfte wurden von den Sorten „Industrie" und „Edeltraut" hergestellt.

Tab. 2. Vergleich von Mycelernten auf synthetischer Nährlösung, Kartoffelsaft-Nährlösung und reinem Kartoffelsaft (nach 16 Tagen).

Zusammensetzung der Nährlösung	Mycelernten in g von je 3 Kontrollen		
	Act. scabies	Act. 17	Act. 22
30 ccm reine synthetische Nährlösung I[1]	0,067	0,057	0,027
20 ccm Lösg. I + 10 ccm „Industrie"-Saft	0,241	0,341	0,407
20 ccm Lösg. I + 10 ccm „Edeltraut"-Saft	0,174	0,260	0,348
30 ccm reiner Kartoffelsaft „Industrie"[2]	0,0	0,0	0,0
30 ccm reiner Kartoffelsaft „Edeltraut"[2]	0,0	0,0	0,0

[1]) Ohne Zugabe von Kartoffelsaft.
[2]) Ohne Zugabe von synthetischer Nährlösung.

Die Zugabe von Kartoffelknollen-Säften begünstigte also in allen Fällen das Actinomyceten-Wachstum in ganz eindeutiger Weise. Auffallend ist auch, daß die Erntegewichte bei Kultur in „Industrie"-Saft-Nährlösung stets höher liegen als bei „Edeltraut". Eine Beimpfung des reinen Kartoffelsaftes mit diesen drei Actinomyceten (ohne Zugabe der synthetischen Nährlösung) ergab keinerlei Pilzentwicklung.

Eine weitere Versuchsreihe mit Kartoffelsäften sollte dazu dienen, den Einfluß der Stickstoffquelle auf die Pilzentwicklung zu ermitteln. Gleichzeitig sollte auch die Wirkung einer Magnesiumgabe geprüft werden. Als N-Quellen dienten in diesem Falle Harnstoff und Ammonnitrat, als Mg-Quelle das $MgSO_4$. Die synthetischen Nährlösungen II, III und IV waren wie folgt zusammengesetzt:

II. 0,1 % Pepton (Witte)
0,025% Harnstoff
0,05 % K_2HPO_4

III. 0,1 % Pepton (Witte)
0,025% Harnstoff
0,05 % K_2HPO_4
0,05 % $MgSO_4$

IV. 0,1 % Pepton (Witte)
0,03% NH_4NO_3
0,05% K_2HPO_4
0,05% $MgSO_4$

Jede dieser Nährlösungen wurde wiederum zu je 20 ccm in 3 Kontrollkolben eingefüllt und dazu 10 ccm des Kartoffelsaftes „Industrie" oder „Edeltraut" zugesetzt. Die Reaktion der unbeimpften Kontrollen zu Beginn des Versuches (Anfangs-p_H) wurde elektrometrisch mittels der Chinhydron-Elektrode bestimmt (Tab. 3).

Tab. 3. Anfangs-p_H der Nährlösungen mit Kartoffelsaft.

10 ccm Kartoffelsaft der Sorte	+ 20 ccm Nährlösung		
	II	III	IV
Industrie	6,25	6,20	6,15
Edeltraut	6,32	6,25	6,25

Diese Schwankungen zwischen den einzelnen p_H-Werten liegen sämtlich innerhalb der Fehlergrenzen des Apparates, weshalb die Anfangsreaktionen sämtlicher drei Nährlösungen als praktisch gleich betrachtet werden können.

Die Beimpfung erfolgte mit den Actinomyceten: Act. scabies, A. flavus, Noc. odorifera, Stamm 22, A, B und D. Die Kulturdauer betrug 12 Tage bei 27° C. Nach Aberntung der Mycele wurden die Lösungen der drei jeweils zusammengehörigen Kölbchen vereinigt und deren Reaktion (End-p_H) bestimmt. Die erhaltenen Befunde sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tab. 4. Die Mycel-Erntegewichte von Actinomyceten bei Kultur in Nährlösung II, III, IV und die Endreaktion dieser Lösungen nach 12tägiger Kulturdauer.

Actinomyces-Stamm	Kartoffelsaft	Nährlösung II		Nährlösung III		Nährlösung IV	
		Mycel (g)	End-p_H	Mycel (g)	End-p_H	Mycel (g)	End-p_H
Act. scabies .	Industrie	0,157	8,75	0,144	8,50	0,162	8,80
Act. scabies .	Edeltraut	0,118	8,0	0,142	9,20	0,136	9,10
Act. flavus . .	Industrie	0,063	5,35	0,066	5,20	0,060	5,00
Act. flavus . .	Edeltraut	0,052	5,20	0,054	5,90	0,043	5,30
Noc. odorifera .	Industrie	0,030	5,60	0,059	5,50	0,045	5,40
Noc. odorifera .	Edeltraut	0,080	6,75	0,070	7,60	0,070	6,20
22	Industrie	0,170	6,20	0,193	8,30	0,226	8,40
22	Edeltraut	0,108	7,20	0,173	8,95	0,183	9,10
A	Industrie	0,222	7,70	0,242	8,90	0,270	9,00
A	Edeltraut	0,130	8,30	0,150	9,05	0,169	9,00
B	Industrie	0,131	7,25	0,281	8,50	0,228	8,60
B	Edeltraut	0,128	8,40	0,134	8,50	0,137	8,80
D	Industrie	0,073	7,70	0,080	7,80	0,108	8,20
D	Edeltraut	0,081	7,10	0,075	8,35	0,100	8,40
unbeimpft . .	Industrie	—	—	—	6,10	—	6,00
unbeimpft . .	Edeltraut	—	—	—	6,20	—	6,15

Diese Zahlen zeigen, daß die Nährlösung IV mit Ammoniumnitrat als N-Quelle in vielen Fällen höhere Mycel-Erntegewichte lieferte. Dies steht also in gewissem Gegensatz zu den oben angeführten Ergebnissen von Lieske, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß die zu diesen Untersuchungen herangezogenen Strahlenpilzstämme größtenteils aus dem Boden stammen und deshalb sehr wohl andere N-Quellen bevorzugen können als die von Lieske verwendeten Stämme. Weiterhin ist aus diesen Versuchen abzuleiten, daß der or-

ganische Stickstoff in Form von Pepton keineswegs als alleiniger N-Lieferant angesehen werden kann, sondern, daß die Pilze ihren Bedarf an diesem Nährstoff zum Teil auch aus anorganischen Salzen decken. — Eine Ausnahme in ihrem Verhalten bilden die beiden Actinomyces-Stämme A. flavus und Noc. odorifera, deren ursprüngliche Herkunft unbekannt ist, sie sind beide aus Baarn bezogen. Ihnen sagt diese Art des Nährsubstrates nicht zu und sie wachsen — trotz ihrer auf Agar stets zu beobachtenden aeroben Lebensweise — in dieser Nährlösung unter der Flüssigkeitsoberfläche, d. h. am Boden des Gefäßes, und bilden hier einen krümeligen Bodensatz. — In diesem Zusammenhange sei auch auf die Säuerung der Nährlösung hingewiesen, die stets bei diesen Stämmen zu beobachten ist.

Was die Magnesiumwirkung bezüglich der Entwicklung der verschiedenen hier untersuchten Stämme anbetrifft, so kann allgemein von einer Wachstumsbegünstigung gesprochen werden. Wenn auch nicht bei allen Stämmen eine auffallende Steigerung der Wachstums-Intensität zu verzeichnen ist, so kann doch nirgends von einer Schädigung die Rede sein. In einzelnen Fällen war die günstige Wirkung des Magnesiums sehr stark, so besonders bei Stamm 22 und B (Industrie).

Aus den End-p_H-Zahlen geht hervor, daß sämtliche Stämme, die gutes Wachstum auf den dargebotenen Nährsubstraten zeigten, die Reaktion sehr stark nach der alkalischen Seite hin verschoben haben, während die beiden Stämme A. flavus und Noc. odorifera die Reaktion in umgekehrter Richtung beeinflußten. Es läßt sich aber keine absolut feststehende Beziehung zwischen der Stärke der Pilzentwicklung und der Intensität der Alkalisierung aufstellen, denn nicht in allen Fällen entspricht dem höchsten Mycel-Erntegewicht auch die höchste p_H-Zahl. Trotzdem ist aber bei einer Gegenüberstellung des schwach wachsenden Stammes D mit den üppig sich entwickelnden Stämmen A. scabies, 22, A und B ein gewisser Zusammenhang der Reaktionsänderung mit den Erntegewichten nicht zu verkennen. So sind wohl auch die in fast allen Fällen niedrigeren p_H-Zahlen der Kulturen in Nährlösung II gegenüber den anderen beiden Lösungen zu erklären. Wie die unbeimpften Kontrollkolben zeigen, hat sich im Laufe der 12tägigen Bebrütung die Reaktion des Nährsubstrates selbst praktisch nicht geändert.

Bemerkenswert ist auch hier wieder die Feststellung, daß die kräftig wachsenden Stämme A. scabies, 22, A und B in allen Fällen bei ihrer Kultur in „Industrie"-Saft höhere Mycel-Ernten ergaben als bei Zugabe von „Edeltraut"-Saft. Diese Erscheinung wiederholt sich bei allen nachfolgenden Versuchen, weshalb eindeutig von einem Einfluß der Kartoffelsorte auf das Actinomyceten-Wachstum gesprochen werden kann. Diese Feststellung bildet die Grundlage zur späteren Prüfung von etwa 70 verschiedenen Kartoffelsorten.

Zur Ermittlung der zeitlichen Reaktionsänderung und des Fortschreitens der Mycelgewichtszunahme wurden die zwei verschiedenartig wachsenden Stämme A und Act. flavus abermals in die Nährlösung II mit Kartoffelsaft von (neu bezogener) „Industrie" und „Edeltraut" in gleichem Mischungsverhältnis (20 : 10 ccm) geimpft und während 12 Tagen bebrütet. Die Mycele wurden an den ersten Tagen täglich und dann in größeren Zwischenräumen (7. und 12. Tag) geerntet. Bei der jeweiligen Ernte wurden 3 Kolben aus der Versuchsreihe

entnommen, die zur Entwicklung gekommenen Pilzmengen gewichtsmäßig bestimmt und die Reaktion der verbleibenden Nährlösung ermittelt (Tab. 5).

Tab. 5. Zeitlicher Verlauf der Mycelgewichtszunahme und der Reaktionsänderung von 2 Actinomyces-Stämmen.

Actinomyces-Stamm	Erntetag	Nährlösung + Industrie		Nährlösung + Edeltraut	
		Mycel (g)	End-p_H	Mycel (g)	End-p_H
A	1.	—	6,35	—	6,25
Act. flavus	1.	—	6,30	—	6,20
A	2.	0,028	6,45	0,040	6,35
Act. flavus	2.	0,049	6,00	0,030	5,85
A	3.	0,083	6,75	0,085	6,58
Act. flavus	3.	0,048	5,70	0,038	5,51
A	4.	0,124	7,30	0,112	6,90
Act. flavus	4.	0,051	5,55	0,055	5,40
A	5.	0,132	7,80	0,133	7,45
Act. flavus	5.	0,042	5,45	0,035	5,30
A	7.	0,196	7,85	0,173	7,90
Act. flavus	7.	0,055	5,25	0,042	5,00
A	12.	0,155	8,45	0,148	8,45
Act. flavus	12.	0,068	—	0,060	5,25

Anfangs-p_H der Nährlösung mit „Industrie“-Saft = 6,45.
Anfangs-p_H der Nährlösung mit „Edeltraut“-Saft = 6,30.

Demnach nimmt das Mycelgewicht bei Stamm A sowohl in der Nährlösung mit „Industrie“-Saft als auch mit „Edeltraut“-Saft bis zum 7. Entwicklungstage zu, um dann bis zum 12. Tage — wohl infolge eintretender Autolyse — wieder abzunehmen. Viel ungleichmäßiger sind die erhaltenen Zahlenwerte bei dem schwach wachsenden Act. flavus.

Grundverschieden verhalten sich jedoch beide Stämme bezüglich der Endreaktion ihrer Nährlösungen. Bei Kultur des Stammes A wird die Reaktion der Nährlösungen bei beiden Kartoffelsäften sehr stark nach der alkalischen Seite hin verschoben und diese stärker werdende Alkalität schreitet auch noch fort, wenn das Pilzwachstum bereits zum Stillstand gekommen ist. Genau umgekehrt verhält sich der A. flavus. Die Lösung wird hier immer saurer, die Wasserstoffionen-Konzentration hat am 7. Wachstumstage ihren höchsten Punkt erreicht, um dann wieder etwas zu sinken.

III. Versuche mit Säften aus Kartoffelstengeln.

Während der Sommermonate wurde von einer Verarbeitung von Kartoffelknollen abgesehen, denn es sollten nun auch die oberirdischen Stengelteile der Kartoffeln zur Actinomyceten-Kultur herangezogen werden. Hierzu dienten die zu drei verschiedenen Zeiten geschnittenen Stengel eines Kartoffelsortenversuchs der Pflanzenzuchtstation des hiesigen Instituts, der 14 verschiedene Sorten umfaßte. Die erste Stengelernte erfolgte kurz nach der Blüte der Kartoffeln, der nach 6 bzw. 8 Wochen je eine weitere Stengelernte folgte. Die Stengel wurden morgens abgeschnitten und ihrer Blätter durch Abstreifen beraubt. Noch am gleichen Tage wurden die Stengel der 14 Sorten — nach vorheriger entsprechender Reinigung — mittels des „Fleischwolfes“ ausgepreßt und der gewonnene Saft weiterhin wie Knollen-

saft behandelt. Von den so vorbehandelten Säften wurden wiederum je 10 ccm mit 20 ccm folgender Nährlösung gemischt:

0,1 % Pepton (Witte)
0,05% NH_4NO_3
0,05% K_2HPO_4

Tab. 6. Actinomyces-Erntegewichte bei Kultur in Kartoffelstengelsäften von verschiedenem Alter.

Sorte Nr.	Sortenname	Blütezeit	Actinomyces-Stamm A: Stengelverarbeitung 20. Juli			Stengelverarbeitung 30. August			Stengelverarbeitung 16. September		
			Mycel g	Anf.-pH	End-pH	Mycel g	Anf.-pH	End-pH	Mycel g	Anf.-pH	End-pH
501	Industrie	20. 7.	0,170	6,25	7,80	0,159	5,80	7,00	0,079	6,05	7,15
502	Ovalgelbe	29. 6.	0,200	6,25	8,30	0,203	6,00	7,60	0,190	6,05	7,80
503	Blaupunkt . . .	28. 6.	0,195	6,25	8,00	0,178	6,05	7,20	0,069	6,0	5,15
504	Goldfink	2. 7.	0,191	6,30	7,90	0,171	6,10	6,80	0,089	5,9	6,90
505	Maibutter . . .	1. 7.	0,173	6,40	8,00	0,069	6,10	7,30	—	—	—
506	Parnassia	27. 6.	0,204	6,30	8,10	0,217	6,10	7,30	0,074	6,05	7,10
507	Berlichingen . .	4. 7.	0,248	6,20	8,10	0,070	6,15	6,80	—	—	—
508	Wekaragis . . .	7. 7.	0,244	6,15	8,10	0,127	6,15	6,20	0,080	5,80	6,40
509	Paul Wagner . .	26. 6.	0,232	6,25	8,10	0,144	6,15	6,95	—	—	—
510	Max Delbrück .	28. 5.	0,223	6,20	8,15	0,188	6,05	6,90	0,109	—	7,40
511	Stärkereiche I .	29. 6.	0,186	6,25	7,70	0,185	6,10	7,30	0,068	—	7,60
512	Gneisenau . . .	29. 6.	0,149	6,30	8,25	0,160	6,20	7,50	0,091	—	5,50
513	Cellini	27. 5	0,158	6,30	8,20	0,090	6,15	6,60	—	—	—
514	Industrie	20. 7.	0,171	6,20	8,05	0,082	5,90	6,15	0,037	5,90	7,55

Sorte Nr.	Sortenname	Blütezeit	Actinomyces-Stamm B: Stengelverarbeitung 20. Juli			Stengelverarbeitung 30. August			Stengelverarbeitung 16. September		
			Mycel g	Anf.-pH	End-pH	Mycel g	Anf.-pH	End-pH	Mycel g	Anf.-pH	End-pH
501	Industrie	20. 7.	0,186	6,25	8,05	0,159	5,80	7,10	0,087	6,05	7,60
502	Ovalgelbe	29. 6.	0,185	6,25	8,25	0,185	6,00	7,40	0,156	6,05	7,60
503	Blaupunkt . . .	28. 6.	0,195	6,25	8,20	0,161	6,05	6,50	0,089	6,00	5,30
504	Goldfink	2. 7.	0,203	6,30	8,10	0,164	6,10	6,40	0,107	5,90	7,50
505	Maibutter . . .	1. 7.	0,180	6,40	8,20	0,075	6,10	7,50	—	—	—
506	Parnassia	27. 6.	0,234	6,30	8,20	0,163	6,00	7,40	0,090	6,05	7,85
507	Berlichingen . .	4. 7.	0,243	6,20	8,15	0,078	6,15	7,10	—	—	—
508	Wekaragis . . .	7. 7.	0,257	6,15	8,00	0,137	6,15	7,20	0,100	5,80	7,45
509	Paul Wagner . .	26. 6.	0,231	6,25	8,10	0,122	6,15	7,60	—	—	—
510	Max Delbrück .	28. 5.	0,218	6,20	8,10	—	—	—	0,107	6,25	7,90
511	Stärkereiche I .	29. 6.	0,187	6,25	8,05	0,161	6,10	7,55	0,078	—	7,90
512	Gneisenau . . .	29. 6.	0,161	6,30	8,15	0,141	6,20	7,50	—	—	—
513	Cellini	27. 5.	0,177	6,30	8,15	0,088	6,15	7,15	—	—	—
514	Industrie	20. 7.	0,194	6,30	8,05	0,094	5,90	7,00	0,042	5,90	7,80

Geimpft wurde mit den Stämmen A und B, die auf Grund der früheren Versuche die gleichmäßigsten Ernten innerhalb der Kontrollen ergaben. Mit diesen Stämmen wurden auch sämtliche weiteren Versuche angestellt.

Die Kulturdauer wurde auf 8 Tage herabgesetzt, da zu dieser Zeit in den meisten Fällen das Höchstgewicht erreicht ist. — Die vorstehende Übersicht bringt eine Zusammenstellung der Erntegewichtszahlen der Stämme A und B bei Kultur in den am 20. Juli, 30. August und 16. September 1932 hergestellten Stengelpreßsäften. Weiterhin sind Anfangs- und End-p_H der Lösungen sowie der Blütetermin der Kartoffelsorten aufgeführt.

Die Stengelpreßsäfte der einzelnen Kartoffelsorten eignen sich nach vorstehenden Ergebnissen ebenfalls zur Kultur der Actinomyces-Stämme A u. B. Aus den unterschiedlichen Erntegewichten, die durch die verschiedenen Kartoffelsorten bedingt sind, läßt sich ableiten, daß die Zusammensetzung der Säfte nicht immer gleich ist, da die Pilze ihren Nährstoffbedarf in verschieden hohem Maße decken konnten. Diese Erscheinung wiederholt sich an allen drei Untersuchungsterminen und ist besonders deutlich bei der zweiten Prüfung der Säfte am 30. August.

Charakteristisch ist auch der Abfall der Erntegewichte von Juli bis September. Im Herbst „verholzen“ die oberirdischen Teile der Pflanze, d. h. sie werden ärmer an Wasser, Pentosanen, Zucker und Hemizellulosen, dafür aber reicher an Zellulose und Lignin. Die Säfte, die also zu einem späteren Zeitpunkt gewonnen werden, müssen ärmer an leicht löslichen Substanzen sein als im Hochsommer und können daher den Pilzen weniger Nährstoffe zur Verfügung stellen. Da dies sich ganz eindeutig in den Erntegewichten an Pilzmasse ausdrückt, so muß die Intensität des Actinomyceten-Wachstums als Gradmesser des jeweiligen Reifezustandes der Kartoffelpflanzen angesehen werden. Dies gilt um so mehr, als sich die einzelnen Kartoffelsorten in dieser Hinsicht sehr unterschiedlich verhalten. Bei den frühreifen Sorten, wie z. B. „Maibutter“ und „Cellini“ nehmen in der Zeit vom 20. Juli bis 30. August die Erntegewichte ganz erheblich ab und bei der dritten Untersuchung am 16. September konnten sogar von diesen Sorten keine Stengelpreßsäfte mehr hergestellt werden, da das Kartoffelkraut mittlerweile auf dem Felde völlig vertrocknet war. Weiterhin zeigen die Zahlen, daß z. B. die Sorte „Ovalgelbe“ sehr spätreif sein muß, da die Erntegewichte an Pilzmasse während der gesamten Untersuchungszeit (20. 7. bis 16. 9.) nur unbedeutend abgenommen haben. In der Tat waren auf dem Felde sogar noch im September die Stengel dieser Sorte in frischem, grünem Zustand.

Ferner sei auf die beiden „Industrie“-Stengelsäfte 501 und 514 hingewiesen. „Industrie“ 501 wurde zur Pflanzung als Originalsaatgut bezogen, während „Industrie“ 514 einen ersten ostpreußischen Nachbau darstellt. Es handelt sich hier also um zwei verschiedene Herkünfte. Bei der ersten Untersuchung der Stengel am 20. Juli verhielten sich beide Herkünfte nach der Pilzkultur völlig übereinstimmend, d. h. sie lieferten gleich große Mycel-Erntegewichte. Bei der folgenden Untersuchung am 30. August traten jedoch eindeutige Unterschiede in der Richtung hervor, als sich bei 501 das Erntegewicht nur verhältnismäßig wenig erniedrigte, während bei 501 eine große Erntegewichts-Minderung, auf etwa die Hälfte des Gewichts der ersten Untersuchung, eintrat. Erst bei der letzten Untersuchung im September sank das Mycelgewicht bei 501 erheblich ab; gleichzeitig sank aber auch nochmals der Wert von 514 auf wieder die Hälfte der vorangegangenen zweiten Untersuchung. Da nur von der Sorte „Industrie“

zwei verschiedene Herkünfte zur Verfügung standen, so können daraus keinerlei weitergehende Schlüsse gezogen werden, die dahin gehen, daß diese Erscheinung sich in all denjenigen Fällen wiederholen müsse, wo es sich um verschiedene Herkünfte einer Sorte handelt. Die Tatsache aber, daß die Strahlenpilze scharf auf die Zusammensetzung des Pflanzensaftes reagieren, gibt zu weiteren Forschungen über den Herkunftwert einer Sorte Anlaß, zumal sich die beiden hier verwendeten Stämme A und B völlig gleichsinnig verhielten. Diese angeführten Untersuchungen können als experimentell gesichert betrachtet werden, da es sich bei den Zahlen der Tabelle 6 um Mittelwerte aus 2 × 3 Kontrollen je Actinomyces-Stamm handelt (vgl. hierzu auch die experimentell ermittelten Fehlerschwankungen der Methode, S. 192).

Aus den beigefügten p_H-Zahlen ist auch bei dieser Versuchsreihe wieder die deutliche Verschiebung der Reaktion in das alkalische Gebiet zu ersehen. Durch die Beigabe von K_2HPO_4 zur Nährlösung ist bei allen Kulturen eine praktisch gleiche Anfangsreaktion der verschiedenen Säfte zu erreichen. während naturgemäß die reinen Säfte ohne Nährlösung deutliche Unterschiede in ihrer p_H-Zahl zeigen.

IV. Methodische Versuche.

1. Der Einfluß steigender Mengen an Kartoffelstengel-Preßsaft auf das Mycel-Erntegewicht von Actinomyceten.

Die zu den Versuchen in Tabelle 6 angewandte synthetische Nährlösung:

0,1 % Pepton (Witte)
0,05% Ammonnitrat
0,05% K_2HPO_4

wurde wieder zu jeweils 20 ccm zur Kultur der beiden Actinomyceten-Stämme A und B verwandt. Dazu wurden die Kartoffelstengelsäfte des ersten Untersuchungstermins (20. Juli) der Sorten 509 und 511 in Mengen von je 0, 2,5, 5,0 und 10,0 ccm zugesetzt. Um in allen Versuchsreihen die gleiche Flussigkeitsmenge von 30 ccm zu erreichen, wurde entsprechend destilliertes Wasser zugefügt. Die nach 8tägiger Kulturdauer erhaltenen Mycelgewichte sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tab. 7. Die Beeinflussung der Mycel-Erntegewichte durch steigende Mengen an Kartoffelstengelsaft.

Saft von Kartoffelsorte	Actinomyces-Stamm A				Actinomyces-Stamm B			
	Kart.-Saft ccm	Anf.-p_H	End-p_H	Mycel g	Kart.-Saft ccm	Anf.-p_H	End-p_H	Mycel g
—[1]	—	—	7,8	0,0	—	—	7,8	0,0
509	2,5	7,1	8,1	0,042	2,5	7,1	8,1	0,047
509	5,0	6,7	8,2	0,104	5,0	6,7	7,6	0,099
509	10,0	6,2	8,1	0,225	10,0	6,2	7,1	0,190
511	2,5	7,2	7,9	0,036	2,5	7,2	8.0	0,041
511	4,0	7,05	8,0	0,068	4,0	7,05	8,0	0,072
511	5,0	7,05	8,0	0,093	5,0	7,05	8,0	0,086
511	10,0	6,7	7,9	0,171	10,0	6,7	8,1	0,179

[1]) Ohne Kartoffelsaft, nur 20 ccm synthetische Nährlösung + 10 ccm aq. dest. Mycele unwägbar.

Eine Steigerung der Kartoffelsaft-Zugabe zu den jeweils 20 ccm der synthetischen Nährlösung ergab bei beiden Stämmen

A und B *eine Wachstumssteigerung*. Trägt man die Erntegewichte in einem Koordinatensystem auf, so ergibt sich eine Gerade, d. h. die Erntegewichte sind direkt proportional der zugesetzten Saftmenge.

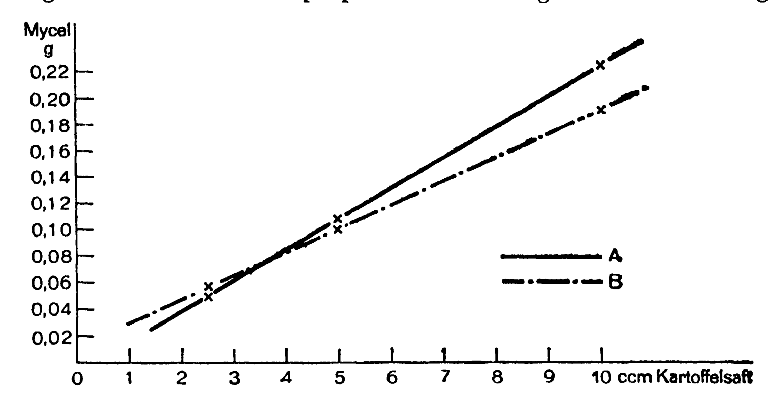


Fig. 1. Beispiel der Erntegewichtszunahme bei Steigerung des Kartoffelstengelsaftes 509.

Beim Kartoffelsaft 511 verlaufen die den Stämmen A und B entsprechenden Geraden, deren Richtung durch 4 Punkte bestimmt ist, in ähnlicher Weise. Lediglich die Werte für 4,0 und 5,0 ccm Kartoffelsaft liegen jeweils um 0,004 g zu hoch. Diese außerordentlich geringe Schwankung ist jedoch bedeutungslos.

2. *Der Einfluß verschiedener Sterilisations-Temperaturen der Kartoffelsäfte auf das Actinomyceten-Wachstum.*

Bei sämtlichen bisher beschriebenen Versuchen kam zur Sterilisation der Kartoffelsäfte niemals eine höhere Temperatur als 100° C zur Anwendung. Die Abtötung der stets in den Säften vorkommenden äußerst lästigen und widerstandsfähigen Sporen der Bazillen aus der *Vulgatus-Mesentericus*-Gruppe erforderte stets eine an 3 aufeinanderfolgenden Tagen stattfindende Behandlung der Säfte im strömenden Dampf. Trotzdem verdarben auch dann noch zeitweise die so behandelten Säfte, indem sich auf ihrer Oberfläche eine dicke Kahmhaut der erwähnten Mikroben bildete; deshalb sollte der Einfluß einer Temperaturerhöhung bei der Sterilisation der Kartoffelsäfte einer experimentellen Prüfung unterzogen werden. Hierzu dienten Stengelsäfte der Sorte „Industrie", die von Pflanzen eines großen Feldschlages entnommen wurden. Diese „Industrie"-Sorte ist also nicht mit den Sorten 501 und 514 gleichzusetzen, da sie unter veränderten Kulturbedingungen gewachsen war. Wiederum wurden die beiden Stämme A und B auf das übliche Nährsubstrat (20 ccm Nährlösung und 10 ccm Saft) verimpft. Bei der Sterilisation der bereits in den Kölbchen gemischten jeweils 30 ccm Nährsubstrat wurde neben der üblichen Sterilisation bei strömendem Dampf noch der gespannte Dampf von 110 bzw. 120° C in den Versuch einbezogen.

Die bei den von 100 nach 110° C gesteigerten Sterilisations-Temperaturen geernteten Actinomyceten-Mycele zeigten sowohl bei Stamm A als auch bei Stamm B eine deutliche *Zunahme* des Gewichtes. Die Steigerung betrug etwa 10%. Eine weitere Erhöhung der Sterilisations-Temperatur

von 110 nach 120° C blieb praktisch ohne Wirkung auf das Erntegewicht an Pilzmasse. Mit der Temperatur-Erhöhung war demnach ein „Aufschließen" des Saftes und damit eine Zunahme an leicht aufnehmbaren Nährstoffen verbunden. Auf die Reaktion der Nährlösung am Ende des Versuches übten die verschiedenen Temperaturen keinen Einfluß aus.

Tab. 8. Einfluß der Sterilisations-Temperatur von Kartoffelsäften auf das Actinomyceten-Erntegewicht.

Sterilisations-Temperatur	Stamm A			Stamm B		
	Anfangs-pH	End-pH	Mycel g	Anfangs-pH	End-pH	Mycel g
100° C	6,2	6,9	0,181	6,2	7,7	0,163
110° C	6,2	6,9	0,220	6,2	7,7	0,193
120° C	6,2	6,9	0,217	6,2	7,65	0,196

3. Die gegenseitige Beeinflussung von Actinomyces-Stämmen.

Um einen Einblick in das Nebeneinanderleben einiger Actinomyceten bei ihrem gleichzeitigen Wachstum auf dem gleichen Nährsubstrat zu gewinnen, wurden zwei Versuchsreihen angesetzt. Bei der ersten Versuchsreihe kamen wiederum die Stämme A und B — sowohl allein als auch in Mischkultur — zur Prüfung. Die Mischkulturen wurden so angelegt, daß einmal die beiden Actinomyceten in üblicher Weise mit der Platinöse gleichzeitig in die Nährlösung geimpft wurden und zum anderen Male nacheinander, d. h. in 2tägigem Abstand. Zu den beiden Stämmen A und B wurde zu dieser Versuchsreihe noch ein aus Silofutter isolierter Stamm K (mit charakteristischen crèmefarbigen Luftsporen) herangezogen, der bei einem Versuch der Mischung A + B zugeimpft worden war (Nährlösung: „Industrie"-Saft + synthetische Nährlösung wie S. 188).

Tab. 9. Gegenseitige Beeinflussung von Actinomyces-Stämmen I.

Actinomyces-Stamm	Anfangs-pH	End-pH	Mycel-Ernte g	Ammoniak (Neßler)
A	6,2	6,9	0,186	+
B	6,2	7,7	0,163	+ + +
A + B (gleichzeitig) . . .	6,2	7,45	0,163	+ + +
A + (nach 2 Tagen) B . .	6,2	7,85	0,174	+ + +
B + (nach 2 Tagen) A . .	6,2	7,35	0,133	+
A + B + K (gleichzeitig) .	6,2	7,4	0,128	+

Besonders auffallend ist bei diesen Zahlen der Gewichtsabfall in den Kulturen des Stammes B bei nachträglicher Zuimpfung von A. Während bei gleichzeitiger Impfung von A + B immerhin noch das Gewicht von B erreicht wurde, stören sich beide Organismen bei der Impfung: B + (nach 2 Tagen) B ganz beträchtlich, was auch in dem geringen Ammoniakwert zum Ausdruck kommt. Umgekehrt erfährt aber die Ammoniakproduktion bei der nachträglichen Zuimpfung von B in A keine Beeinträchtigung und das Mycelgewicht liegt zwischen den Werten von A und B je allein kulti-

viert. — Wurde zu A + B gleichzeitig auch der Stamm K zugeimpft, so ist hier das niedrigste Erntegewicht an Pilzmasse festzustellen und das Mycel besitzt die charakteristischen Eigenschaften von K allein. K unterdrückt also die Stämme A und B, was auch aus der Ammoniakproduktion zu schließen ist.

Zu einem späteren Zeitpunkt wurde ein ähnlicher Versuch durchgeführt, bei dem außer den beiden Stämmen A und B noch der säurebildende Act. flavus neben A. scabies zur Prüfung herangezogen wurde. Der zur Nährlösung zugesetzte Kartoffelsaft stammte wieder von der Sorte „Industrie". Die erhaltenen Zahlen können aber nicht mit denen des Vorversuchs unmittelbar verglichen werden, da inzwischen die Kartoffelknollen länger als ein halbes Jahr im Keller aufbewahrt worden waren und daher der daraus hergestellte Saft von anderer Zusammensetzung ist.

Tab. 10. Gegenseitige Beeinflussung von Actinomyceten II.

Actinomyces-Stamm	Mycel-Ernte g	End-[1]) pH	Ammoniakbildung[2]) mg NH_3 — N in 100 ccm
A	0,231	8,57	30,0
B	0,212	8,93	9,6
Act. scabies	0,160	6,68	4,2
Act. flavus	0,083	5,68	2,8
A + B	0,225	8,83	18,0
A + Act. flavus	0,089	5,65	3,1
B + Act. flavus	0,165	8,00	14,4
Act. scabies + Act. flavus	0,216	8,82	19,6

[1]) Anfangs-p_H war für alle Lösungen = 5,99.
[2]) Der „blinde Wert" ist in Abzug gebracht.

Charakteristisch ist wieder das niedrige Erntegewicht bei A. flavus und die gleichzeitige Verschiebung der Reaktion nach der sauren Seite hin. In diesen Kulturen wurde auch praktisch kein Ammoniak gebildet. Die Stämme A und B je allein lieferten die höchsten Erntegewichte und besonders bei A wurde viel Ammoniak ermittelt. A. scabies nimmt in allen geprüften Eigenschaften eine Mittelstellung ein. Bei Actinomyces B überrascht die geringe Ammoniakzahl bei gleichzeitiger hoher Alkalität. Bei den in Tab. 9 aufgeführten qualitativ ermittelten Ammoniakzahlen liegen die Verhältnisse umgekehrt. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, daß bei veränderter Saftkonzentration das Ammoniakbildungsvermögen der Stämme beeinflußt wird, was auch aus den Versuchen an Säften der verschiedenen Kartoffelsorten hervorgeht.

Aufschlußreich sind die Ergebnisse der Versuchsreihe A + B. Das Erntegewicht an Myzeltrockenmasse stellt nahezu das mathematische Mittel zwischen den Werten von A und B je allein dar. Die p_H-Zahl nähert sich der von B, während die Ammoniakzahl wiederum das ungefähre Mittel zwischen den Werten der Stämme A und B darstellt. — Act. A wird durch A. flavus geschädigt, ja sogar unterdrückt; bedeutend geringer ist der schädliche Einfluß auf Stamm B, während A. scabies eine wesentliche Förderung erfährt.

4. Die Fehlerschwankungen der Methode.

Um den mittleren Fehler und damit die Zuverlässigkeit der bei diesen Versuchen angewandten Methodik festzustellen, wurde eine Mischung der Reste der Kartoffelstengelsäfte der 3. Ernte (16. September, vgl. S. 185 ff.) in jeweils 5 Wiederholungen zu je 3 Kulturen angesetzt, mit den Stämmen A und B beimpft und nach 8 tägiger Kulturdauer die Gewichte an Pilzmasse ermittelt.

Tab. 11. Ermittlung des Fehlers bei Actinomyceten-Versuchen.

Actinomyces-Stamm	End-pH	Mycel g	Mittlere Schwankung g	Actinomyces-Stamm	End-pH	Mycel g	Mittlere Schwankung g
A	7,7	0,039		B	7,7	0,088	
A	7,7	0,041		B	7,65	0,082	
A	7,7	0,038	± 0,0010	B	7,65	0,081	± 0,0015
A	7,7	0,038		B	7,7	0,080	
A	7,7	0,042		B	7,7	0,079	

Der mittlere Fehler betrug hiernach ± 1,0—1,5 mg. Diese Zahlen stellen kein Zufallsergebnis dar, denn es wurde mit „Industrie"-Saft (S. 189) der Versuch in gleicher Weise wiederholt. Obwohl die Erntegewichte bei Stamm A in jenem Falle die Höhe von 0,180 g und bei Stamm B 0,160 g erreichten, betrug hier der mittlere Fehler bei beiden Pilzstämmen ± 2,0 mg. Bei der praktischen Durchführung der Methode kommen mitunter natürlich auch größere Schwankungen vor; sie betragen jedoch nicht mehr als 2—3 m°/₀. Vorbedingung für gutes Arbeiten der Methodik ist gleichmäßige Impfung der Nährsubstrate mit Sporenmaterial von Kulturen im Alter von etwa 10 Tagen.

Faßt man die Ergebnisse des Hauptteils der vorbeschriebenen Versuchsreihen zusammen, so läßt sich feststellen, daß die Actinomyceten auf geeigneten Nährlösungen bestimmte Ernten an Myzel-Trockenmasse ergeben. Genau so wie andere Mikroorganismen, z. B. Aspergillus niger, Azotobacter chroococcum u. a. als Indikatoren für die chemische Zusammensetzung gewisser Nährsubstrate herangezogen werden können, so besteht sehr wohl auch die Möglichkeit, die Strahlenpilze für die „mikrobiologische Analyse" von Pflanzenpreßsäften zu verwenden.

Naheliegend war der Gedanke, die Actinomyceten auf Kartoffelpreßsäften zu kultivieren, da eine große Anzahl dieser Pilze nach den verschiedensten Autoren befähigt ist, die unter dem Namen Kartoffelschorf bekannte Krankheit hervorzurufen. Erst durch die genaue Kenntnis der Lebensweise dieser Organismen wird man in der Lage sein, die Ursachen und damit auch die Bekämpfungsweise dieser Krankheit zu studieren. Die Voraussetzung zur physiologischen Prüfung dieser Pilze bildet stets eine Züchtungsmethodik, die es erlaubt, jedes einzelne Stadium der Entwicklung dieser Lebewesen objektiv zu erfassen. Die rein subjektive Beurteilung der Wachstumsintensität, z. B. in Agarkulturen, führt sehr oft zu Trugschlüssen, weshalb schon Münter, Waksman u. a. zur Wägung der auf bestimmten Nährsubstraten zur Entwicklung gekommenen

Actinomycetenmyzelien übergegangen waren. Diese Art der Beurteilung des Pilzwachstums wurde übernommen, aber statt reiner synthetischer Nährlösungen kam ein den natürlichen Verhältnissen näherkommendes Substrat — in diesem Falle also Kartoffelpreßsäfte — zur Anwendung. Es bewährten sich sowohl Knollen- als auch Stengelpreßsäfte (in Mischung mit einer synthetischen Nährlösung) zur Kultur der Strahlenpilze. In der synthetischen Nährlösung wurde 0,1% Pepton als Eiweißquelle, NH_4NO_3 als anorganische N-Quelle und K_2HPO_4 als Kali- und Phosphorsäurelieferant gegeben. Diese Nährstoffe wurden deshalb zugesetzt, da sich erwiesen hatte, daß auf reinen Kartoffelpreßsäften keinerlei Actinomycetenentwicklung erfolgt und zudem eine Verdünnung des Saftes wegen der Schwankungen im Trockensubstanzgehalt angebracht war. Durch den Zusatz dieser Nährlösung wurde auch eine praktisch einheitliche Anfangsreaktion sämtlicher Nährmedien erreicht.

Es ergaben sich eindeutige Unterschiede zwischen den aus verschiedenen Kartoffelsorten hergestellten Preßsäften und auch die durch die Lagerung der Knollen bedingten Umwandlungen des Zellsaftes werden durch gesteigertes bzw. abgeschwächtes Pilzwachstum ausgedrückt. So ist z. B. hervorzuheben, daß der zu einer Reihe von Versuchen verwendete „Industrie"-Saft immer stärkeres Pilzwachstum lieferte als Zusatz von „Edeltraut"-Saft. Ebenfalls sehr deutlich reagieren die Actinomyceten auf die chemische Zusammensetzung des Stengelsaftes. Es traten bei den Versuchen nicht nur deutliche Unterschiede zwischen den aus Stengeln 14 verschiedener Sorten bereiteten Säfte hervor, sondern auch das Alter der untersuchten Kartoffelstengel ist von Einfluß auf die Erzeugung an Pilzmasse. Es wird der Reifezustand einer Kartoffelsorte und seine Beziehung zur Stengelsaftkonzentration und -zusammensetzung durch die Actinomycetenkultur deutlich zum Ausdruck gebracht, d. h. je weiter eine Kartoffelsorte in ihrem Reifezustand fortgeschritten ist, desto geringer sind die erzielten Gewichte an Myzeltrockenmasse. Diese Erscheinung wurde an drei Versuchsreihen mit Stengelpreßsäften, die zu verschiedenen Zeiten geerntet waren, festgestellt.

Daß auch verschiedene Herkünfte ein und derselben Kartoffelsorte gewisse Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellsäfte bedingen, läßt sich aus einem Beispiel von zwei verschiedenen „Industrie"-Herkünften ableiten, die zur Blütezeit der Kartoffeln völlig übereinstimmende Myzelernten lieferten, aber späterhin große Unterschiede erkennen ließen.

Von großem Einfluß auf die Entwicklung der Actinomyceten ist, wie bereits oben erwähnt, das Alter der Knollen, aus denen die Säfte hergestellt werden. Es bestehen demnach nur Vergleichsmöglichkeiten zwischen Kartoffeln von gleichem Alter und gleicher Behandlungs- (Lagerungs-) Weise. Diese Tatsache ist auch für die bakteriologische Arbeitsmethodik von Bedeutung, da die üblichen Kartoffelnährböden, falls sie nicht stets von der gleichen Sorte hergestellt werden, in bestimmten Fällen Unterschiede in der Mikroorganismenentwicklung liefern, die jede Vergleichsmöglichkeit ausschließen.

Die physiologischen und methodischen Studien haben u. a. ergeben, daß der Einfluß von Magnesium in Form von $MgSO_4$ sich günstig auf die Actinomycetenentwicklung auswirkte. Ebenso wurde ermittelt, daß in einer Nährlösung, die bereits 0,1% Pepton enthält, eine zusätzliche N-Gabe in Form von NH_4NO_3 besser verwertet wird, als eine im N-Gehalt

gleich hohe Harnstoffgabe. Eine Erhöhung der Sterilisationstemperatur von 100 nach 110° C bewirkt höhere Myzelerntegewichte, da hierbei mehr Nährstoffe für die Strahlenpilze aufnehmbar gemacht werden. Eine weitere Erhöhung der Sterilisationstemperatur auf 120° C blieb ohne Einfluß.

An Hand der großen Unterschiede des Actinomycetenwachstums bei Prüfung verschiedener Kartoffelsorten ist erwiesen, daß die Strahlenpilze auf die sortenmäßig bedingte unterschiedliche Zusammensetzung der einzelnen Säfte reagieren. Es besteht hiernach die Möglichkeit, Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten einer Pflanzenart festzustellen und zwar nach anderen Gesichtspunkten als durch die chemische Analyse. Wieweit ein solches Verfahren eine Daseinsberechtigung verdient, läßt sich noch nicht überblicken, zumal noch nicht festgestellt ist, welches Alter der Knollen zu solchen Untersuchungen in Frage kommt. Soviel ist jedoch sicher, daß derartige Ergebnisse nur dann untereinander vergleichbar sind, wenn alle Untersuchungen zum gleichen Zeitpunkt durchgeführt werden.

Diese Methodik soll in keiner Weise als etwas Feststehendes und Fertiges angesehen werden, denn es ist nicht unmöglich, daß andere Strahlenpilzstämme oder auch andere Kleinlebewesen sich zur Durchführung einer „mikrobiologischen Analyse“ besser eignen. Auch kann eine andere Gewinnung und Behandlung der Säfte brauchbarere Ergebnisse liefern. Es sollte nur ein Weg beschritten werden, der zur Unterscheidung der Säfte verschiedener Sorten einer Pflanzenart die Lebewesen arbeiten und auswählen läßt. — Über Ergebnisse der Knollensaftprüfungen von etwa 70 verschiedenen Kartoffelsorten und 10 Tomatenstengelpreßsäften wird gesondert berichtet.

Zusammenfassung.

1. Die vorliegenden Untersuchungen sind auf die bereits in der Literatur bekannte Erscheinung aufgebaut, daß die in der bakteriologischen Arbeitsmethodik zu diagnostischen Zwecken gerne verwendeten Kartoffelnährböden bei verschiedenen Mikroben Entwicklungsunterschiede liefern, die nur in der Kartoffelsorte begründet sein können, weshalb eine experimentelle Prüfung dieser Tatsache durchgeführt werden sollte.

2. Hierfür wurden — neben Reinkulturen von Actinomyces scabies, A. chromogenes, A. flavus, A. setonii, Noc. odorifera und anderen — hauptsächlich zwei aus Komposterde isolierte Strahlenpilzstämme A und B herangezogen, die — ohne einer botanischen Analyse vorzugreifen — bezüglich ihres Wachstums auf verschiedenen Nährböden kurz charakterisiert worden sind.

3. Preßsäfte von Kartoffelknollen bzw. Kartoffelstengeln in Mischung mit einer geeigneten synthetischen Nährlösung im Verhältnis 1 : 2 lieferten befriedigendes Actinomycetenwachstum.

4. Als N-Quelle eignete sich für die geprüften Actinomycetenstämme in vielen Fällen Ammonnitrat besser als Harnstoff; ebenso wirkte sich ein Zusatz von Magnesium (in Form von $MgSO_4$) günstig auf ihre Entwicklung aus.

5. Der durch die Actinomyceten bewirkte Grad der Reaktionsänderung des Nährsubstrats wurde elektrometrisch bestimmt. Es zeigte sich, daß zwei Strahlenpilze: Act. flavus und Noc. odorifera in allen

Fällen eine Erhöhung der H-Ionenkonzentration der Nährlösung bewirkten, während alle übrigen Stämme die Reaktion stark nach der alkalischen Seite hin verschoben. Eine absolute Gesetzmäßigkeit zwischen den gebildeten Ammoniakmengen und den p_H-Werten ließ sich nicht immer feststellen.

6. Kulturversuche mit Actinomyceten auf Stengelpreßsäften von 14 verschiedenen Kartoffelsorten eines Sortenversuchs zeigten deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten bezüglich der Menge des gebildeten Strahlenpilzmyzels. (Die Nährlösung in ihrer Zusammensetzung: synthetische Nährlösung + Kartoffelpreßsaft wurde in der Mehrzahl aller Versuchsreihen sowohl mit Stamm A als auch mit Stamm B beimpft und die zur Entwicklung gekommenen Myzele nach ihrer Trocknung gewogen.) Die Strahlenpilzstämme A und B zeigten die durch die einzelnen Kartoffelsorten bedingte Verschiedenheit der Nährsubstrate auf Grund ihrer Myzelernten stets gleichsinnig an.

7. Wurden die Kartoffelstengel der 14 verschiedenen Sorten nach der Blüte in mehrwöchentlichen Zwischenräumen dem Feldbestand entnommen und die daraus hergestellten Preßsäfte zur Actinomycetenkultur verwendet, so drückten die unterschiedlichen Myzelernten den Reifezustand der einzelnen Kartoffelsorten aus. Obwohl mit zunehmendem Alter bei sämtlichen Kartoffelsäften eine Gewichtsabnahme der darauf zur Entwicklung gekommenen Myzele zu verzeichnen war, so war doch die Schnelligkeit des Abfalls der Myzelerntegewichte sehr verschieden. Die zuerst reifenden Kartoffelsorten lieferten auch zuerst die niedrigsten Erntegewichte an Pilzmasse.

8. Die Stengelsäfte von zwei verschiedenen „Industrie“-Herkünften verhielten sich bei ihrer Prüfung mit den beiden Actinomycetenstämmen A und B nicht gleichartig. Das Originalsaatgut brachte gegen Ende der Vegetationszeit noch bedeutend höhere Myzelernten als der ostpreußische Nachbau.

9. Auch bei der Prüfung von Kartoffelsäften, die aus Knollen hergestellt wurden, zeigten sich Unterschiede in der Actinomycetenentwicklung, die sowohl im Alter (Lagerungszeit) der Knollen als auch in der Kartoffelsorte begründet sind.

10. Die Actinomyceten reagieren also scharf auf die durch die Sorten, den Reifezustand oder Herkunft bedingte jeweilige Zusammensetzung der Pflanzenpreßsäfte. Diese „mikrobiologische Pflanzenanalyse“ stellt somit den Versuch dar, durch Mikroorganismen sorteneigentümliche Unterschiede innerhalb einer Pflanzenart zu erfassen.

11. Fernerhin wurde der Einfluß der Sterilisationstemperatur der Preßsäfte, die Zugabe gestaffelter Preßsaftmengen zur Nährlösung und die gegenseitige Beeinflussung einiger Actinomycetenstämme auf dem gleichen Nährsubstrat geprüft. Weitere Versuche geben Aufschluß über die mathematische Zuverlässigkeit der Versuchsergebnisse.

Literatur.

1. Rullmann, W., Dissert. München 1895. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. S. 116, 701; Bd. 5. 1899. S. 212. 713.) — 2. Neukirch, H., Über Strahlenpilze. II. Straßburg 1902. — 3. Salzmann, P., Dissert. Königsberg i. Pr. 1902. (Nach Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. 2. Aufl. 1904—1907. S. 212.) — 4. Fousek, A., Mitt. landw. Lehrkanzel, k. k. Hochschule f. Bodenkultur, Wien. Bd. 1. 1912. S. 217. — 5. Beijerinck, M. W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. 1900. S. 2. — 6. Krainsky, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914. S. 649 (dort Hinweise auf ältere Literatur). — 7. Münter, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II.

Bd. 36. 1913. S. 365; Bd. 39. 1913/14. S. 561; Bd. 44. 1916. S. 673. — 8. Waksman, S. A., und Curtis, R. E., Soil Science. Vol. 1. 1916. p. 99; Waksman, S. A., Soil Science. Vol. 8. 1919. p. 71; Waksman, S. A., Principles of Soil Mikrobiology. Baltimore 1927. (Dortselbst weitere Hinweise.) — 9. Lieske, R., Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig (Gebr. Borntraeger) 1921; Lieske, R., Bakterien und Strahlenpilze. (In: Handbuch d. Pflanzen-Anatomie. Abt. 2, 1. Berlin [Gebr. Borntraeger] 1922.) — 10. Wollenweber, H. W., Der Kartoffelschorf. (Arb. d. Forsch.-Inst. f. Kartoffelbau. H. 2. 1920. S. 1.) — 11. Wollenweber, H. W., In: P. Sorauer, Handb. d. Pflanzenkrankh. III. S. 830. Berlin (P. Parey) 1932. — 12. Sanford, G. B., Phytopathology. Vol. 16. 1926. S. 525. — 13. Lehmann-Neumann, Bakteriologische Diagnostik. II. Allgemeine und spezielle Bakteriologie. München 1927. — 14. Wingerberg, F., Kühn-Archiv. Bd. 33. 1932. S. 259.

Beobachtungen über Mucor botryoides Lendner.

Von Dr. **Fr. Zach**, Wien.

Mit 1 Abbildung im Text.

Gelegentlich einer Untersuchung einheimischer Mucoraceae wurde 1928 aus einer aus einem Kiefernwäldchen bei Raasdorf im Marchfelde (Nied.-Österr.) stammenden Erdprobe eine Mucorart isoliert, die nachträglich durch Vergleich mit einem aus Baarn bezogenen Stamme als M. botryoides bestimmt werden konnte. Dieser Pilz ist zum ersten Male von Prof. A. Lendner beschrieben worden, der ihn 1910 aus Genfer Ackererde gezüchtet hat. Waksman fand ihn 1917 in Alaska. Ich selbst habe ihn noch 1931 aus einer aus dem Kidrontale (Palästina) und 1932 aus einer aus Neapel stammenden Erdprobe isoliert. Die Isolierung wurde in allen Fällen auf Bierwürzeagar vorgenommen, auf den kleine Erdkrümelchen ausgesät wurden.

Ein Vergleich dieser aus vier verschiedenen Gegenden herrührenden Stämme ließ unter ihnen keine Unterschiede wahrnehmen, so daß also diese Art als sehr konstant und wohl charakterisiert erscheint.

Da die Beschreibungen und die Abbildungen, die Prof. Lendner von dem Pilze gibt, unvollständig sind, möchte ich im nachfolgenden eine Ergänzung hierzu geben und auch einiges über seine Physiologie anführen. Für die Bearbeitung wurde in erster Linie der Stamm Raasdorf verwendet.

Nach Aussaat der Sporen entwickelt sich ein schneeweißes, lockeres, wolliges, oder wie Lendner sagt, spinnwebenartiges Luftmycel, das sich aus bogig gekrümmten und sich gegenseitig stützenden Hyphen zusammensetzt. Diese mehrere Zentimeter langen, ziemlich kräftigen Fäden teilen sich während ihres Verlaufes in ein- oder mehrfachgabeliger Verzweigung in zwei oder mehrere Äste, von denen sich die einen in die Luft emporheben, um dort zu Sporangienträgern zu werden oder blind mit rhizoidartigen Verzweigungen zu endigen, die anderen aber im Bogen über das Substrat hinwegsetzen, um erst in Berührung mit diesem oder mit der Wand des Kulturgefäßes reich verzweigte Rhizoide auszubilden (Abb. 1, 1 u. 2). Die Länge der Ausläufer kann, in Reiskulturen gemessen, 3—4 cm, ihr Durchmesser 10—20 μ betragen. Sie führen stark gekörneltes Protoplasma, sind in der Jugend querwandlos, lassen aber später ebenso wie die Rhizoide und zwar vor allem an ihren Verzweigungsstellen, Querwände erkennen. Der Rasen ist anfangs

weiß, bekommt später einen Stich ins Gelbliche, bei Kartoffel- und Reiskulturen früher als bei Brotkulturen, und nimmt schließlich, wenn er von zahlreichen Sporangien durchsetzt ist, eine gelblich-bräunliche Färbung an. Dann sinkt auch der alternde Rasen etwas in sich zusammen.

Die Sporangienträger zeigen ein verschiedenes Verhalten. Einfache Träger, zumeist mannigfach gewunden und gebogen, entspringen teils einzeln oder zu Büscheln vereint auf den Ausläufern, teils auf den Rhizoiden, wo sie einzeln auf den stärkeren Hauptästen oder in Büscheln zu 3—4 auf den Knotenpunkten aufstehen (Abb. 1, 1 u. 2). Oder es geht das Ende eines Astes in ein Büschel dicht stehender Sporangienträger über, wobei sich das Ende oft knapp unterhalb der Sporangienträger etwas erweitert (Abb. 1, 3). Häufig bemerkt man auch am Ende des Fadens ein größeres Sporangium, das zuerst reif wird und in einiger Entfernung unterhalb desselben mehrere kurze, bald dichotom, bald sympodial verzweigte Träger, die ihrerseits wieder mit einem Sporangium abschließen (Abb. 1, 4). In der Regel geht aber die Verzweigung solcher sekundärer Träger weiter und es entstehen lange, reichlich sympodial verzweigte Astsysteme, in denen die Seitenäste mit zunehmender Ordnungszahl immer kürzer und schwächer und ihre abschließenden Sporangien immer kleiner werden, bis diese nur mehr einige wenige Sporen enthalten.

Normalerweise beträgt der Durchmesser der Sporangienträger bis zu 13 μ und darüber, geht aber in den Endverzweigungen bis auf 4,5 μ herab. Ihre Membran ist glatt; doch konnten gelegentlich an alten Trägern unterhalb der Sporangien Kristallauflagerungen beobachtet werden.

Die Sporangien treten innerhalb des ganzen Rasens auf, eine ausgesprochene Sporangienschicht gibt es nicht. Die Sporangien sind kugelig, erscheinen anfangs weiß, später, gegen einen lichten Hintergrund gehalten, grau, matt und dunkeln schließlich zu einem sehr hellen Gelbbraun nach. Die farblose, durchscheinende Membran wird von den Sporen stellenweise etwas vorgewölbt. Sie ist an den ältesten Sporangien glatt und im Wasser zerfließlich, wobei meist nur ein spärlicher Kragen zurückbleibt. An den kleinen Sporangien der sympodial verzweigten Astsysteme dagegen zeigt sie oft feine Rauhigkeiten oder einen Besatz von stäbchen- oder spießförmigen Kriställchen. Diese Sporangien reißen dann meistens auch unregelmäßig auf und lassen dabei einen mächtigen Kragen in Form größerer oder kleinerer Fetzen zurück.

Der Durchmesser der Sporangien ist sehr variabel. L e n d n e r gibt als Durchmesser des Endsporangiums durchschnittlich 80 μ an. An meinen 4 Stämmen, auf Bierwürze kultiviert, konnte ich durchschnittlich 45—60 μ messen, auf stärkehaltigen Nährböden gezogen auch solche bis zu 125 μ. An den Astsystemen werden die Sporangien mit zunehmender Ordnungszahl immer kleiner und gehen in den Endverzweigungen eines 4 cm hohen, auf Reis gewachsenen, Rasens bis auf einen Durchmesser von 32 μ herab.

Auch die Columella ist sehr variabel sowohl nach ihrer Form wie nach ihrer Größe. In den großen Sporangien ist sie längsoval, gestreckt kugelig, seltener rein kugelig, in den kleinen Sporangien glockenförmig und kegelig. Sie ist farblos, glatt und zeigt folgende Dimensionen: in den großen Sporangien 23,5 × 27,5 μ bis 43 × 68 μ; in kleinen Sporangien 21,5 × 25,5 μ, 14 × 15 μ, 6,5 × 6,5 μ. L e n d n e r fand für sie 66 × 44 μ, 55 × 38 μ, 30 × 20 μ und weniger.

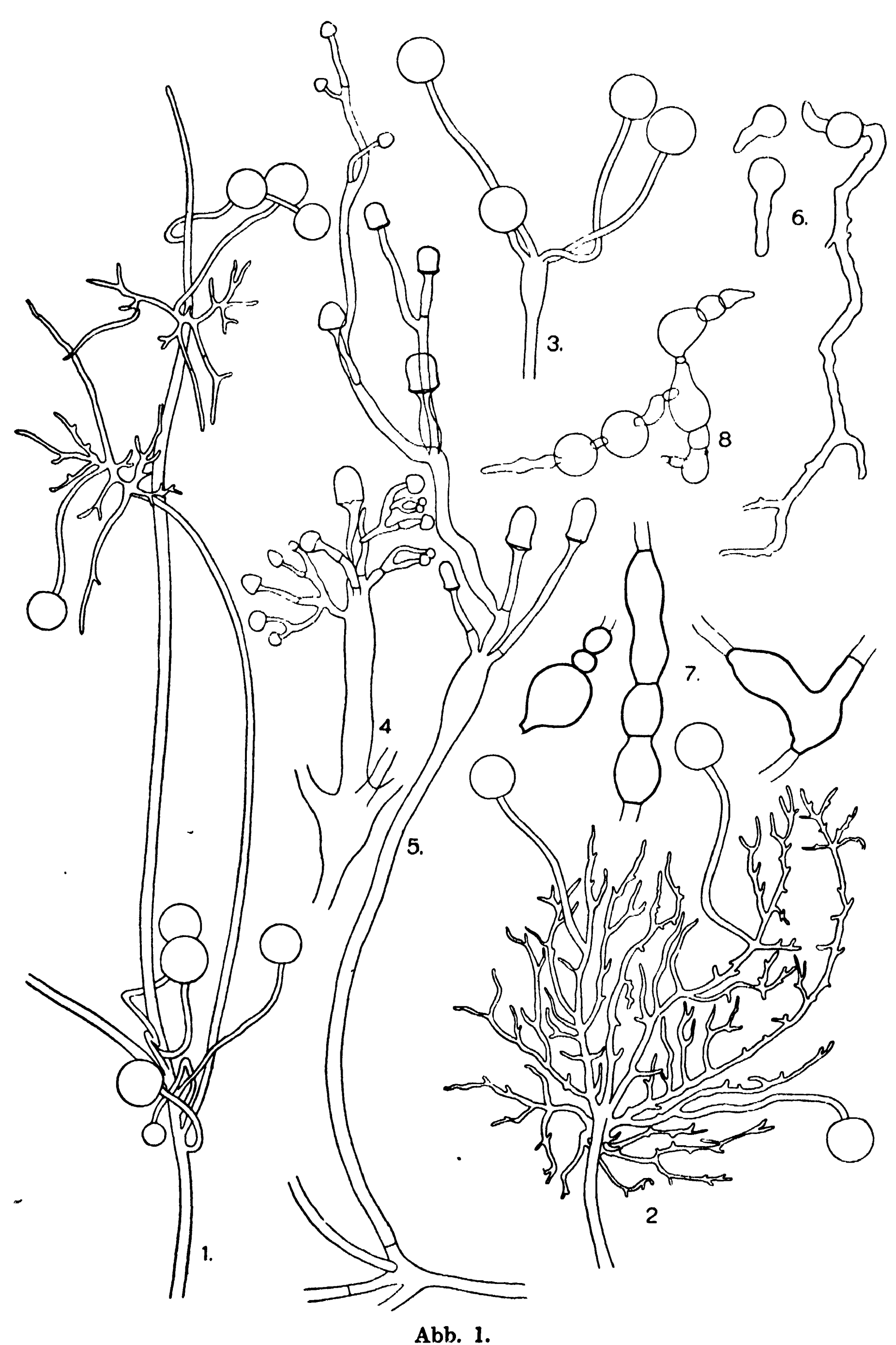


Abb. 1.

Die Sporen sind kugelig, aber durch kleinste Rauhigkeiten polyedrisch erscheinend, hyalin, weißlich, mit einem Stich ins Gelbliche, gehäuft gelblichbraun, durch die Wand des Sporangiums hindurchschimmernd. Ihre

Form und Größe ist sehr beständig und unabhängig von dem Substrat und den verschiedenen Wachstumsbedingungen. Ihr Durchmesser beträgt nach Lendner im Mittel 8 μ (Maximum 10 μ), doch gibt es auch kleinere mit 5—6 μ. Nach meinen Messungen beträgt er durchschnittlich 6,5—7,5—8,5 μ; im Maximum 10,8 μ (selten), im Minimum 4,3 μ (selten). Bei der Keimung (auf Würzegelatine über hohlem Objektträger und im hängenden Tropfen) schwellen sie zu einem Durchmesser von 10,75—15,5 μ an und keimen dann mit einem oder zwei etwa 4 μ dicken Keimschläuchen aus (Abb. 1, 6). Nach 24 Std. schon hatten sich reichlich verzweigte Hyphen gebildet, die nach weiteren 24 Std. reife Sporangien trugen. Dann waren auch schon Querwände am Mycel und an den Sporangienträgern sichtbar.

Der Pilz bildet Chlamydosporen von recht mannigfaltiger Gestalt und Größe. Diese sind kugelig, oval, tonnenförmig (20 × 30 μ) oder ganz unregelmäßig geformt und treten sowohl am Luftmycel wie besonders reichlich an submers gewachsenen Hyphen auf und zwar vor allem in Bierwürzegelatine- und Agarkulturen (Abb. 1, 7). Submers in Bierwürze oder in anderen zuckerhaltigen Nährlösungen gewachsenes Mycel ist reichlich verzweigt. Seine 4,3—10,7 μ dicken Hyphen sind anfangs mit feinkörnigem Plasma erfüllt und führen später gelbe, kugelige, ölige Inhaltskörper, die sich beim Zusatz von Überosmiumsäure bräunen. Besonders reichlich sind solche Öltropfen in den submers gewachsenen Chlamydosporen zu finden.

Neben Gemmen werden in den Nährflüssigkeiten auch reichlich Kugelzellen gebildet (Abb. 1, 8). Während die Gemmen ohne weiteres mit 1—2 Keimschläuchen auskeimen, schwellen die Kugelzellen unter gleichen Bedingungen (Bierwürzegelatine) zunächst zu einer mächtigen Blase an und wachsen dann erst innerhalb 24 Std. zu breiten Hyphen aus, die sogleich wieder Neigung zu Kugelzellenbildung zeigen.

Auch über das sexuelle Verhalten der 4 Stämme wurden Versuche angestellt. Es konnten aber weder auf Bierwürzeagar noch auf Bierwürze unter Anwendung der Gipsblockmethode noch auch auf Fließpapier, das mit mineralischer Nährlösung unter Beigabe von 5, 15 und 30% Rohrzucker getränkt worden war, Zygosporen erhalten werden, trotzdem die Pilze auf diesen Substraten ganz vortrefflich gediehen. Nichtsdestoweniger ist aber doch der Stamm Raasdorf als Minusform einer heterothallischen Rasse anzusprechen, da er in wiederholten Versuchen einmal wohl mit Absidia glauca +, nicht aber mit Absidia glauca — Ansätze zur Bildung von Bastardzygoten beobachten ließ.

Der Pilz ist sehr vegetationskräftig. Er wächst sehr gut auf Brot, Reis, Kartoffel, etwas weniger gut auf Karotte, ferner gut auf 2% Agar oder 10% Gelatine mit Bierwürze oder Pflaumendekokt oder Hefewasser mit 5% Glukose oder Saccharose. Auch auf den gleichen festen Nährböden mit mineralischer Nährlösung, Pepton und 5—30% Saccharose wächst er vortrefflich. Auf Brot und Reis bildet er dichte, 5—6 cm hohe, anfänglich weiße, später aber namentlich auf Reis sich gelblich verfärbende ansehnliche Rasen, in dessen Innerem und auf dessen Oberfläche überall reichlich Sporangien gebildet werden. Eigentümlicherweise verzögerte sich auf Reis das Angehen der Kultur, auch blieb hier die Höhe des Pilzrasens stets niedriger als auf Brot. Dagegen trat die Sporangienbildung in den Reiskulturen immer etwas früher und augenscheinlich auch viel reicher auf als in den gleichalterigen Brotkulturen. Besonders reichliche Sporangienbildung ist auch

auf Kartoffel, Karotte und den erwähnten mineralischen Nährböden zu beobachten.

Als flüssige Nährmedien wurden Bierwürze und 5% Hefewasser mit Glukose oder Saccharose verwendet. Schon 24 Std. nach der Sporenaussaat zeigte sich bei 25° C durch die ganze Flüssigkeit eine wolkige, von feinen Mycelflocken herrührende Trübung. Nach 48 Std. war auf der Oberfläche der Nährlösung ein fleckenförmiger, 1 cm hoher Rasen zu sehen, der sich rasch ausbreitete und schon am 4. Tage die ganze Oberfläche überwuchert hatte. Diese Decke war stellenweise durch große Gasblasen vorgewölbt. Am 5. Tage machte sich ein deutlicher Geruch nach Äpfeln bemerkbar, womit der Gärungsvorgang etwas nachließ. Später roch die Kultur nach faulen Äpfeln.

Das Gärungsvermögen des Pilzes wurde in 5% Hefewasser + 5% der jeweiligen Zuckerart in Einhornschen Gärröhrchen untersucht. Die Gärung trat schon am 2. Tage ein. Sehr gut und rasch wurden vergoren: Saccharose, Glukose und Lävulose, etwas schwächer Maltose, Dextrin nicht immer und dann auch nur schwach, Galaktose einmal in Spuren, Laktose nicht.

Stamm	Saccharose	Glukose	Laevulose	Maltose	Dextrin	Galaktose	Laktose
Raasdorf . . .	+	+	+	+	+	+	
Neapel.	+	+	+	+	+		
Kidrontal . . .	+	+	+	+	+		
Baarn	+	+	+	+			

Gelatine wird rasch verflüssigt (Beginn der Verflüssigung schon nach 3 Tagen), Stärke wird verzuckert und Milch zum Gerinnen gebracht. Der Pilz produziert auch Säuren, deren Natur aber nicht näher untersucht wurde.

Er wächst noch bei 6° C, rasch und gut gedeiht er bei 15° C; sein Optimum liegt bei 25° C. Bei 30° C geht zwar die Kultur noch rasch an, der Rasen bleibt aber niedrig (1—2 cm hoch) und die Sporangienbildung ist verzögert und stellenweise ganz unterdrückt. Bei 40° C geht der Pilz nur mehr sehr schwer an und zeigt nur äußerst wenig Wachstum. Die oberste Tötungstemperatur für die Sporen liegt zwischen 65° und 70° C, indem bei 65° C immer, bei 70° C aber nur mehr in ganz wenigen Fällen eine Keimung der Sporen beobachtet wurde, die in 1 ccm sterilen Wassers je 15 Min. lang den genannten Temperaturen ausgesetzt worden waren.

Zusammenfassung.

Über das morphologische und teilweise auch physiologische Verhalten von Mucor botryoides, von dem mehrere Stämme verschiedener Herkunft zur Verfügung standen und dessen Beschreibung in der Literatur unvollständig ist, werden genauere Angaben gemacht.

Literatur.

Lendner, A., Bull. Soc. bot. de Genève, Sér. 2. (1910.) p. 78—81. — Waksman, S. A., Soil science. Vol. 3. (1917.) p. 565—589.

Über die Zersetzung des Torfes unter aeroben Bedingungen.

[Aus der Abteilung für Allgemeine Mikrobiologie des staatlichen Instituts für Experimentelle Medizin, Leningrad.]

Von **I. A. Makrinow.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Der Torf ist ein Produkt von großer wissenschaftlicher und praktischer Bedeutung. Die Kompliziertheit der chemischen Zusammensetzung des Torfes, seine Struktur und eigenartigen physischen Eigenschaften haben eine große Mannigfaltigkeit seiner Zersetzungsprodukte zur Folge, die abhängig sind von den Bedingungen, bei denen die Zersetzung vor sich geht. In der Natur, unter natürlichen Bedingungen im Torflager, kann man die Zersetzung des Torfes leicht beim vertikalen Schnitt beobachten; hier sieht man, daß die lockere, kaum von der Zersetzung berührte obere Schicht noch ganz die Natur der Pflanzen-Elemente, aus denen sie zusammengesetzt ist, bewahrt; sie zeigt eine schwammartige, lockere Struktur. Je tiefer man dringt, desto kompakter wird der Torf, seine Farbe geht aus einer hellgelben in eine braune, dunkelbraune und schwarze über; hier hat der Torf die Farbe und Konsistenz der Kohle — bei diesen Bedingungen geht eine Karbonisation, d. h. eine Bereicherung an Kohlenstoff vor sich — er erinnert an Steinkohle, Antrazit u. dgl., weshalb er auch als Heizmaterial benutzt wird. Parallel der Tiefe verändert sich auch die chemische Zusammensetzung des Torfes: so beobachtet Waksman im Tiefentorf (lowoor peat), je tiefer man in den Torf dringt, ein Abnehmen an wasserlöslichen Substanzen (3,08—1,14%), Hemizellulose (10,3—7,29%), dagegen eine Bereicherung an Lignin (38,3—57,8%) und einige Verminderung von Protein bei einer Tiefe von 160 cm. Im Oberflächentorfe vermehrt sich ziemlich stark mit der Tiefe nur der Gehalt an Lignin (von 34,0—43), die anderen Bestandteile verändern sich wenig.

Bei der Zersetzung des Torfes bei Luftzutritt entstehen braune Produkte von unbestimmter Zusammensetzung, welche jedoch Stickstoff enthalten — Humus. Dieser Prozeß geht am Anfang durch die Einwirkung verschiedener säureproduzierender Bakterien vor sich. Weiter wird die Tätigkeit der letzteren durch die Säure gehemmt; an Stelle der Bakterien treten Schimmelpilze auf, welche die Zerstörungsarbeit beschließen. Diese Art der Zersetzung kommt viel seltener vor — hauptsächlich bei der künstlichen Herstellung von Düngemitteln aus Torf.

In allen Fällen geht die Zersetzung des Torfes sehr langsam vor sich — im Laufe von Wochen und Monaten — und zeichnet sich durch Armut der Mikroflora, wie in quantitativer so auch in qualitativer Hinsicht, aus. Letzteres beobachtet man besonders bei der Zersetzung des Torfes bei anaeroben Bedingungen, bei denen auch die Reaktion des Bodens oft recht sauer ist (ph = 3,3—4,2 nach Bedak). Bei der Zersetzung des Torfes bei aeroben Bedingungen ist der Boden weniger sauer und, was die Mikroflora anbetrifft, reicher, doch in biochemischer Hinsicht auch wenig aktiv. So haben Waksman und Stevens auf der Oberfläche des Tiefentorfes von 6 Millionen bis 9 600 000 aerobe und fakultativ-aerobe Bakterien, Actinomyceten und

eine geringe Anzahl von Pilzen gefunden. In einem Falle sind in der Tiefe von 26—40 cm 32 Millionen Bakterien gefunden worden; im allgemeinen nimmt die Zahl der Bakterien mit einer Tiefe von 90 cm stark ab, manchmal bis zu 20 000. Der ph verändert sich in manchen Fällen wenig (von 5,9 an der Oberfläche bis zu 8,0 in der Tiefe), manchmal aber von 4,05—5,18 in der Tiefe.

Mir ist es gelungen, die Zersetzung des Torfes bei ziemlich starkem Luftzutritt und genügender Benetzung zu erreichen. Dieses Verfahren, welches im weiteren eingehend besprochen werden wird, ergab eine Verkürzung der Dauer des Zersetzungsprozesses und ein Endprodukt, welches sich in biochemischer Hinsicht durch besondere Eigenschaften: Quantität und Mannigfaltigkeit der Mikroorganismen, hohe Aktivität, Reichtum an Fermenten, auszeichnete. Solch ein Torf, welchen wir im folgenden als „bearbeiteten“ Torf bezeichnen werden, kann fraglos als Substrat, das den Erdboden durch große Mengen von Bakterien — besonders auserlesener Arten — bereichert, von großer Bedeutung sein. Außer seiner reichen und höchst aktiven Mikroflora wird solch ein Torf großen Einfluß auf die Struktur des Erdbodens, ihre Wärme- und Saugfähigkeit ausüben.

Zu unseren Versuchen diente lockerer sphagnetischer Oberflächentorf (sphagneto-eriophoretum), der schwach zersetzt und genügend einheitlich war. Nach der mikroskopischen Untersuchung besteht er hauptsächlich aus gut erhaltenen Blättern und hat folgende botanische Zusammensetzung: Sphagnum 55%, Eriophoretum 30%, Hypnum 5%, Gräserreste 10%.

Zu unseren Versuchen wurde getrockneter, zu Tafeln gepreßter und ungepreßter Torf genommen. Dieser sowohl wie jener bekamen eine Zugabe von Mineralsalzen: K_2HPO_4 0,1%, $MgSO_4$ 0,05% und Kreide 2% vom Gewicht des trockenen Torfes. Vor dem Versuche wurde der Torf mit einem Gemisch von aeroben Zellulosebakterien und Azotobakter mit Hilfe eines Pulverisators infiziert. Am Anfang des Versuches war der ph des Torfes trotz der Zugabe von Kreide = 6,0, darum wurde der Torf noch mit einer $Ca(OH)_2$-Suspension begossen; die Reaktion stieg infolgedessen bis zu ph = 6,8—7,0 und zum Schluß der Bearbeitung bis auf 7,2. Die Bearbeitung des Torfes war ein periodisches Benetzen im Laufe von 12—15 Tagen bei recht niedriger Temperatur (11—12°) und ungehemmtem Luftzutritt. Vor dem Versuche war der Torf einer bakteriologischen Untersuchung unterworfen worden — er war arm an Mikroben in quantitativer wie auch in qualitativer Hinsicht; im Gesichtsfelde des Mikroskopes konnte man nur selten kurze, leichtgebogene Stäbchenbakterien, sehr wenig Kokken, Pilzmyzel und runde Körperchen, welche an Protozoen erinnern, wahrnehmen. Infizierte Fleisch-Pepton-Gelatine- und Agar-Platten ergaben fast gar kein Wachstum von Bakterien. Eine Zählung der Bakterienzellen nach der Methode von Winogradsky ergab etwa 200 000 in 1 g Torf. Im Laufe der ersten 2 Tage der Bearbeitung blieb der Torf fast ohne Veränderung; angefangen vom 3. Tage bis zum Ende der Röste wächst die Anzahl der Mikroben und deren Arten. Die Hauptmenge der Mikroflora bilden kleine Stäbchen, Kokken und Vibrione. Diese Mikroflora erinnert stark an dieselbe der aeroben Zersetzung der Zellulose von van Iterson. Auch Hefezellen und Pilzmyzel wurden beobachtet; weiter treten lange und dicke Stäbchen und charakteristische Azotobakterzellen auf. Zum Schluß der genannten Periode der Bearbeitung des Torfes veränderte sich seine Struktur bedeutend; er wurde schlaff, verlor seine Elastizität, zerfiel leicht, die

Farbe wurde etwas dunkler — zu dieser Zeit war die Bearbeitung des Torfes beendet. Der bearbeitete, getrocknete Torf wurde parallel mit der Kontrolle einer eingehenden bakteriologischen, chemischen und fermentologischen Untersuchung unterworfen. Die Ergebnisse werden im folgenden kundgegeben.

Die bakteriologische Untersuchung des bearbeiteten Torfes und der Kontrolle.

Diese Untersuchungen werden wir nach den einzelnen Prozessen beschreiben.

1. Nitrifikation. Die Untersuchung wurde in Erlenmeyerkolben mit einer dünnen Schicht des flüssigen Nährbodens nach Omeljansky vorgenommen; die Kolben wurden mit einem Stückchen Torf in der Größe von einer Nuß infiziert und bei einer Temperatur von 26—27° gehalten; alle 4—5 Tage wurde eine qualitative Probe auf das Verschwinden von NH_3 und das Vorhandensein von Nitriten vorgenommen. Die Resultate sind in folgender Tabelle wiedergegeben:

	Tage	9	12	16	20	26	28	34	41	
Der bearbeitete Torf	NH_3	+	+	+	+	Spur	Spur	—	—	Das Ende des Prozesses am 34. Tage
	HNO_2	—	Spur	+	+	+	+	—	+	
Die Kontrolle	NH_3	+	+	+	+	+	+	+	+	
	HNO_2	—	—	—	—	—	—	—	—	

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die erste Phase der Nitrifikation im bearbeiteten Torfe sehr energisch vor sich geht, in der Kontrolle dagegen gar nicht stattfindet. Die mikroskopische Untersuchung zeigt im bearbeiteten Torf eine große Zahl von Nitrosomonas-Zellen in Form von Kokken mit einem dunkler gefärbten Zentrum.

Die zweite Phase der Nitrifikation wurde im gewöhnlichen, flüssigen Nährboden vorgenommen; die Kolben wurden wie im ersten Falle infiziert. Der Prozeß wurde periodisch mit Hilfe von Diphenylamin kontrolliert. Die Resultate sind in folgender Tabelle wiedergegeben:

	Tage	9	16	20	26	41	
Der bearbeitete Torf	HNO_2	+	+	+	—	—	Das Ende des Prozesses am 26. Tage
	HNO_3	—	—	—	+	+	
Die Kontrolle	HNO_2	+	+	+	+	+	Der Versuch wurde am 41. Tage unterbrochen
	HNO_3	—	—	—	—	—	

Dieser Versuch zeigte, daß der Prozeß der Nitrifikation im bearbeiteten Torfe vor sich geht, in der Kontrolle jedoch gar nicht stattfindet.

Die Untersuchungen des Nitrifikationsvermögens der in Frage kommenden Torfproben zeigte, daß im Kontrolltorf keine nitrifizierenden Mikroben vorhanden waren, im bearbeiteten Torfe dagegen in großer Anzahl; wahrscheinlich waren sie mit dem Wasser, welches zur Befeuchtung des Torfes diente, in denselben geraten.

2. Die aerobe Assimilation des Luftstickstoffes. Zur Entwicklung und Anhäufung des Azotobakters war der flüssige Nährboden nach Beijerinck (Mannit 2%, K_2HPO_4 0,1%) und derselbe feste Nährboden mit Zugabe von Agar-Agar angewandt worden. Der flüssige Nährboden war in dünner Schicht in weithalsige Glasgefäße abgefüllt und

ein Faltenfilter mit der Basis in die Flüssigkeit getaucht worden. Der feste Nährboden (Mannit-Agar) wurde in Petrischalen gegossen und beide Nährböden wurden mit einem Stückchen Torf in Größe von einer Nuß infiziert und im Thermostaten bei einer Temperatur von 29° gehalten. Schon am 4. Tage war auf den Nährböden, welche mit bearbeitetem Torf infiziert waren, eine bräunliche Schicht auf dem Konus und der Platte wahrzunehmen; nach weiteren 1—2 Tagen wurde die Schicht noch dicker und schleimig und bedeckte die ganze Oberfläche des Papiers; ebensolch ein üppiges Wachstum war auch auf den Mannit-Agar-Platten wahrzunehmen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte mächtige Anhäufungen von typischen Azotobacterzellen in Mischung mit begleitenden kleinen Stäbchen.

Flüssige und feste Nährböden, welche in gleicher Weise mit dem Kontrolltorf infiziert worden waren, zeigten kein Wachstum von Azotobacter. Die weiteren mikroskopischen Untersuchungen des bearbeiteten Torfes an nach der Methode von Winogradsky angefertigten Präparaten zeigten auch recht große Mengen von Azotobacterzellen auf den pflanzlichen Teilen des Torfes. Das üppige Wachstum des Azotobacters im bearbeiteten Torfe ist nicht nur auf die künstliche Infizierung zurückzuführen, sondern auf die günstigen Wachstumsbedingungen, welche der Torf während des Zersetzungsprozesses bei Bearbeitung mit Zellulosebakterien bietet[1]).

3. Die anaerobe Assimilierung des Luftstickstoffes. Das Impfmaterial wurde vor dem Versuch bei 80°—10′ pasteurisiert. Als Nährboden wurde derselbe nach Winogradsky angewandt. Die Untersuchung wurde nach der von Bredemann veränderten Methode vorgenommen: die Reagenzgläser wurden, nachdem bei einigem Stehenlassen im Thermostaten bei 29° die Gärung begonnen hatte, aus dem Thermostaten herausgenommen und bei Zimmertemperatur in geneigter Stellung stehen gelassen. Später wurde von hier auf Kartoffeln übergeimpft. In den mit bearbeitetem Torf infizierten Reagenzgläsern war nach 24 Std. heftige Gärung mit starker Schaumbildung wahrzunehmen, die Kreideteilchen am Boden der Reagenzgläser klebten zusammen und bildeten eine schleimige Masse. Nach Verlauf von 2—3 Tagen bei Zimmertemperatur zeigten diese Kulturen, bei einer Überimpfung auf Kartoffeln mit Kreide in anaeroben Bedingungen, ein vorzügliches Wachstum von Clostridium Pasteurianum in Form von typischen knöllchenartigen, stark gasbildenden Kolonien.

Der Kontrolltorf zeigte am Anfang schwache Gärung, auch nach 3 und den folgenden Tagen blieb sie unverändert, die Zellen von Clostridium Pasteurianum in den mikroskopischen Präparaten hatten alle Anzeichen der Involution — sie waren langgezogen, wurmartig — und von unregelmäßiger Form. In beiden Präparaten gaben die Zellen von Clostridium Pasteurianum die charakteristische Granulose-Reaktion mit Jod.

Diese Untersuchungen zeigen, daß sogar bei aerober Bearbeitung des Torfes das anaerobe Clostridium Pasteurianum in einen höchst aktiven Zustand versetzt worden war — wahrscheinlich dadurch, daß sich bei der aeroben Zersetzung des Torfes durch Zellulosebakterien passende Nährstoffe gebildet hatten.

---

[1]) Da die Frage der Symbiose der Zellulosebakterien und der stickstoffixierenden Bakterien bei der Zersetzung des Torfes von großer Wichtigkeit ist, wird ihr eine spezielle Arbeit gewidmet werden.

4. Die Zersetzung (Hydrolyse) von Harnstoff. Dieser Prozeß vollzieht sich in Reagenzgläsern mit flüssigem Nährboden folgender Zusammensetzung nach Söhngen: K_2HPO_4 0,05%, apfelsaures Kalzium 1,0%, Leitungswasser. Diese Flüssigkeit gibt man zu je 5 ccm in Reagenzgläsern, in denen vorher je 0,5 g Harnstoff bei 105° im Trockenschrank sterilisiert worden war.

In den mit bearbeitetem Torf infizierten Kulturen begann die Abscheidung von NH_3 nach 24 Std., nach 48 Std. wurde sie sehr intensiv. In den mit Kontrolltorf infizierten Nährböden konnte man erst nach 4 Tagen eine schwache positive Reaktion auf NH_3 feststellen, welche sogar nach einer Woche nicht die Intensivität des bearbeiteten Torfes erreichte.

In beiden Fällen konnte man bei der Mikroskopie Stäbchen vom Typus Urobacillus Pasteurii wahrnehmen.

5. Die Zersetzung von Eiweißstoffen. Diese Probe wurde derart vorgenommen, daß Fleisch-Pepton-Gelatineplatten mit 1—2 Ösen einer Suspension aus 0,5 g Torf in 5 ccm sterilem Wasser infiziert wurden.

Diese Untersuchungen zeigten das Vorhandensein von Gelatine-verflüssigenden Mikroben im bearbeiteten Torf sowohl wie auch im Kontrolltorf.

6. Denitrifikation. Diese Versuche wurden mittels zwei Variationen im Nährboden von Giltay durchgeführt: mit Zugabe von zitronensaurem Natrum und weinsteinsaurem Kalzium; auf dem ersten Nährboden vollzog sich der Prozeß besser als auf dem zweiten, bei Infizierung mit ein und demselben Material, was aus nachstehender Tabelle ersichtlich ist:

Impfmaterial bearbeiteter Torf	Nährboden mit zitronensaurem Natrium	Nährboden mit weinsteinsaurem Kalzium
Das Eintreten von Trubung	nach 18 Std.	nach 24 Std.
Die Bildung von HNO_2	am 2. Tage	am 3. Tage
„ „ „ NH_3	„ 2. „	„ 3. „
„ „ „ Gas	nach 18 Std.	„ 4. „
Das Verschwinden der Nitrate (HNO_3)	Probe 1 am 5. Tage	am 14. Tage
	„ 2 „ 9. „	„ 15. „
	„ 3 „ 9. „	„ 15. „

Der Kontrolltorf ergab ganz andere Resultate: im ersten Nährboden konnte der Denitrifikationsprozeß überhaupt nicht festgestellt werden; im zweiten konstatierte man eine Trübung am 4. Tage, Spuren von NH_3 am 5. Tage, Gasbläschen am 7. Tage; ein Verschwinden der Nitrate war selbst nach 3 Wochen nicht festzustellen. Der Prozeß wurde beständig durch qualitative Reaktionen mit den üblichen Reagentien auf die Zersetzungsprodukte der Nitrate (wie Nitrite, NH_3 und Gas) kontrolliert.

Diese Untersuchungen zeigten, daß im bearbeiteten Torf ein intensiver Denitrifikationsprozeß vor sich geht.

7. Die Zersetzung von Zellulose. Dieser Prozeß ist bei der Bearbeitung von Torf von besonderer Bedeutung, weshalb er auch eingehender studiert worden ist. Es sind untersucht worden: der aerobe und anaerobe Zerfall von Zellulose und auch die Zersetzung durch Einwirkung der Denitrifikationsmikroben.

Die aerobe Zersetzung der Zellulose wurde nach der Methode von Winogradsky — durch Infizierung von Platten mit Filterpapier mit kleinen Teilchen von Torf — durchgeführt. An den Stellen, wo die kleinen Teilchen sich befanden, wurde ein energisches Wachstum von Mikroben und Zersetzung des Papiers wahrgenommen (Abb. 1). Der Kontrolltorf zeigte bei denselben Bedingungen viel schwächeres Bakterienwachstum. Bei der Mikroskopie konnte man eine für den aeroben Zellulosezerfall typische Mikroflora feststellen.

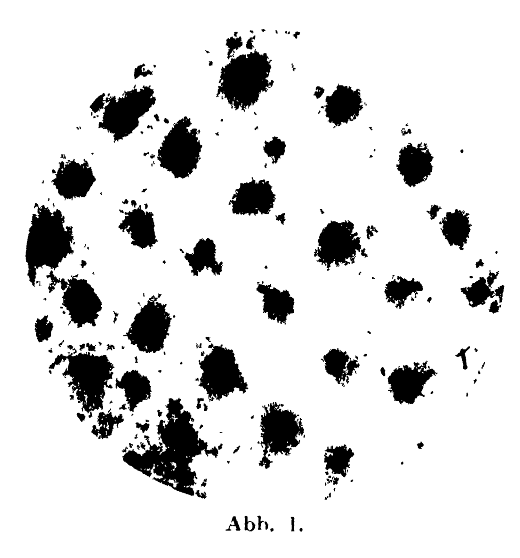


Abb. 1.

Die anaerobe Zersetzung der Zellulose wurde in langhalsigen, bis zum Halse mit dem üblichen Nährboden mit Filtrierpapierstreifen aufgefüllten Gärkolben, welche mit einem S-förmigen Abführrohr versehen waren, durchgeführt. Die Kolben wurden mit kleinen Mengen von bearbeitetem Torf infiziert und im Thermostaten bei einer Temperatur von 34° gehalten. Die mit bearbeitetem Torf infizierten Kolben zeigten nach 2 Wochen starke Trübung der Flüssigkeit und Bildung von Gasbläschen, besonders beim Schütteln; nach einer weiteren Woche wurde das Papier deutlich schleimig und zerfiel beim Schütteln, wobei die Papierfetzen durch den Gasstrom nach oben zum Korken getrieben wurden. Die Flüssigkeit roch nach Schwefelwasserstoff; die mikroskopische Untersuchung zeigte auf den Papierfasern enorme Ansammlungen von Zellen des Methangärungs-Erregers der Zellulose (Bac. methanicus cellulosae). In den mit dem Kontrolltorf infizierten Kolben fand keine Gärung statt: das Papier blieb sogar nach 1½ Monaten unangegriffen; eine mikroskopische Untersuchung zeigte überhaupt keine bakteriellen Zellen.

8. Die anaerobe Zellenzersetzung durch die Denitrifikationsmikroben. Diese Untersuchungen wurden nach van Iterson in langen Reagenzgläschen (40 cm) durchgeführt, welche bis oben mit einem Nährboden folgender Zusammensetzung gefüllt waren: KNO_3 — 0,2%, K_2HPO_4 — 0,05%, Leitungswasser; vorher wurden in die Reagenzgläschen Filterpapierstreifen gebracht im Verhältnis von 1—2% zum Gewicht der Flüssigkeit.

Nach Infizierung mit einem kleinen Stückchen Torf wurden die Reagenzgläschen im Thermostaten bei 35° gehalten. Alle 4—5 Tage wurden sie auf das Verschwinden von HNO_3 und das Auftreten von Nitriten und NH_3 geprüft. Die Resultate dieser Untersuchungen waren folgende: In den mit dem Kontrolltorf infizierten Reagenzgläschen wurde selbst nach 5 Wochen weder die Bildung von Gas und NH_3, noch die Zerstörung des Papiers festgestellt. Man konnte nur die Bildung von Nitriten beobachten, die mikroskopische Untersuchung zeigte gar keine typischen Mikroben.

Ein ganz anderes Bild zeigten die mit bearbeitetem Torf infizierten Reagenzgläschen:

Das Auftreten von Nitriten	am 3. Tage
Das Auftreten von NH_3	fand überhaupt nicht statt
Das Ausscheiden von Gas	am 3. Tage
Das Verschwinden von Nitraten . .	zwischen 11—17 Tagen

Das Papier wurde nach 15—16 Tagen schleimig, stellenweise bildeten sich viele kleine Löcher, an manchen Stellen wurde es gelblich. Die mikroskopische Untersuchung zeigte in den Papierfasern große Mengen von gebogenen, ziemlich großen Stäbchen.

Aus den oben angeführten Resultaten ist ersichtlich, daß das von uns angewandte Verfahren der Torfbearbeitung eine üppige Vermehrung aller wichtigsten Gruppen der Bodenmikroben hervorruft und sie in einen höchst aktiven Zustand versetzt.

Ein paralleler Vergleich der Aktivität verschiedener Gruppen von Mikroben aus bearbeitetem Torf mit den gleichen Mikroben aus sehr fruchtbarem, an Humus reichem Boden aus dem Süden, hat gezeigt, daß die Aktivität der ersten dieselbe der zweiten übertrifft. Ein gleichzeitig angestellter Versuch mit Torf unter gewöhnlichen Bedingungen (in einer Glasdose, mit genügendem Anfeuchten und der Zugabe derselben Salze) zeigte weder eine so üppige Vermehrung der Mikroben noch solch eine Aktivität und solch einen Zerfall des Torfes.

Im weiteren bringen wir die chemische Analyse des Kontrolltorfes und des bearbeiteten Torfes. Es sind nur vorläufig kurze Analysen, die angeführt sind, um ungefähr zu zeigen, wie der Zerfall des Torfes bei diesem Bearbeitungsverfahren vor sich geht; eingehendere Untersuchungen werden vorgenommen und in den nächsten Arbeiten angeführt werden.

Die Resultate der Analysen des bearbeiteten und nichtbearbeiteten Torfes (in %).

	Torf unbearbeiteter	Torf bearbeiteter	Unterschied
Wassergehalt	91,15	89,71	— 1,44
Hygroskopizität	14,77	17,55	2,78
Gesamtasche	0,98	7,09	6,10
Lösliche Mineralstoffe	1,09	6,78	5,69
Lösliche organische Stoffe	6,44	8,16	1,72
Oxydationsvermögen des wässerigen Auszuges nach K ü b e l (in mg auf 1 l)	1000	1420	420
Reduktionsvermögen des wässerigen Auszuges (in % auf Glykose)	1,06	0,43	— 0,63
Gesamtstickstoffgehalt im trockenen Material	0,567	0,610	— 0,043
Löslicher Stickstoff	0,389	0,0887	0,301
Gesamtstickstoffgehalt im feuchten Material	0,500	0,690	0,19
Rohzellulose nach Henneberg und Stomann (in %)	49,20	44,55	— 4,65
Reine Zellulose nach Schulze	26,18	19,05	— 7,13

Aus der angeführten Tabelle geht hervor, daß die Hygroskopizität und das Oxydationsvermögen nach K ü b e l (auf 420 mg) recht stark gewachsen

sind; die Zunahme an Stickstoff ist niedrig im trockenen Material und recht groß im feuchten. Die Abnahme von Zellulose ist auch recht gehörig. Die außerordentlich große Zunahme an Asche ist durch die Zugabe von Salzen, hauptsächlich von Kalzium, zu erklären.

Einige Abschwächung des chemischen Effektes ist nach unserer Meinung durch die kurze Bearbeitungsdauer, niedrige Temperatur und einige technische Defekte der Bearbeitung zu erklären; während dieser Periode ging wahrscheinlich nur eine Vermehrung der Mikroflora vor sich — es war sozusagen die „Inkubationsperiode“ der Reifung des Torfes. Eine energische Zersetzung des Torfes wird wahrscheinlich erst später beginnen, doch wurde der Prozeß zuvor unterbrochen.

Außer der bakteriologischen und chemischen Untersuchung wurden der bearbeitete Torf und der Kontrolltorf auf ihre fermentativen Eigenschaften hin untersucht, wobei die Katalase, Peroxydase, Amylase und Invertase in Frage kamen. Zu den Untersuchungen auf das Vorhandensein von Katalase und Peroxydase wurden 2 g des an der Luft getrockneten Torfes genommen und mit 20 ccm destillierten Wassers befeuchtet. Vom bearbeiteten und nichtbearbeiteten Torf wurden je 2 Proben mit Enzym und 2 Proben ohne Enzym vorgenommen. Die Proben „ohne Enzym“ wurden in der Weise hergestellt, daß sie mit destilliertem Wasser befeuchtet und 10 Min. im Wasserbade bei Siedetemperatur gehalten wurden.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind aus nachstehender Tabelle ersichtlich. Die Zahlen bei der Katalase bedeuten die Kubikzentimeter Sauerstoff, welche im Laufe von 40 Min. bei Einwirkung von H_2O_2 aus dem Torfe ausgeschieden wurden. Die Zahlen bei der Amylase und Invertase bedeuten die Menge von Cu in Milligramm auf 0,1 g Torf im Laufe von 24 Std. bei Einwirkung auf 1% Saccharoselösung.

Die Fermente des bearbeiteten Torfes und des Kontrolltorfes.

		Unbearbeiteter Torf	Bearbeiteter Torf
Katalase	mit Enzym	0,00	0,00
	ohne Enzym	0,00	0,00
	aktiv	0,00	0,00
Peroxydase	mit Enzym	6,79	3,85
	ohne Enzym	5,18	2,52
	aktiv	1,61	1,33
Amylase	mit Enzym	7,83	5,63
	ohne Enzym	7,77	4,22
	aktiv	0,06	1,41
Invertase	mit Enzym	5,91	7,70
	ohne Enzym	5,91	1,05
	aktiv	0,00	6,65

Die Untersuchung der fermentativen Eigenschaften des Kontrolltorfes und des bearbeiteten Torfes zeigt, daß bei dem letzteren während des Bearbeitungsprozesses hinsichtlich der Amylase und Invertase eine Verstärkung der fermentativen Eigenschaften stattfindet.

Da von den obengenannten Bakteriengruppen des bearbeiteten Torfes auf die Zellulose hauptsächlich Zellulosebakterien einwirken, so ist diesen

letzteren große Aktivität und Energie im Zersetzungsprozesse der Zellulose zuzuschreiben; die Zersetzungsprodukte dienen als Nahrungsquelle für alle anderen Mikrobengruppen.

Die von uns angeführte Charakteristik der Mikrobengruppe des bearbeiteten Torfes, seine chemische Analyse und die Untersuchung der fermentativen Eigenschaften erlaubt uns folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Der Torf zeigt bei reicher Befeuchtung und genügendem Luftzutritt üppige Entwicklung der verschiedensten Gruppen der Bodenbakterien und hohe Aktivität derselben.

2. Der bearbeitete Torf erfährt trotz kurzdauernder Bearbeitung (12—15 Tage) bei niedriger Temperatur (11—12°) tiefgreifende Veränderungen in seiner chemischen Zusammensetzung.

3. Was die fermentativen Eigenschaften des bearbeiteten Torfes anbelangt, so wird eine Verstärkung der Aktivität beobachtet.

Meine aufrichtige Dankbarkeit bringe ich Herrn B. Kaiser für einige bakteriologische Untersuchungen und Herrn B. Troizky für chemische Analysen dar.

Literatur.

Bedak, D. A., Quantitative determination of bacteria in a highmoor peat. (Pedology. 1929. XXI.) — Waksman, S., Contribution to the chemical composition of peat. (Soil science. 1928. XXV.) — Waksman, S., and Stevens, Kenneth, Contribution to the chemical Composition of peat. V. The role of microorganisms in peat formation and decomposition. (Soil science. 1928. XXVIII. No. 4.) — Winogradsky, S. N., Etudes sur la microbiologie du sol. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1929. XLIII.) — Logwinowa, S., Der Torf als Quelle von Stickstoff. (Arbeit. d. wissenschaftl. Instit. f. Dung. Bd. 56.) — Troizky, B. W., Über die Fermente bei Pektinstoffgarung. (Arch. f. biol. Wissenschaften. 1929. XXIX. Ausg. 3.)

Untersuchungen zur Biologie der wichtigsten deutschen Arten der Gattung Stereum.

[Aus dem Institut für Botanik der Forstlichen Hochschule Hann.-Münden.]

Von Forstreferendar **Wilhelm Bergenthal.**

Mit 26 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die Pilze der Gattung Stereum sind überall und sehr zahlreich im deutschen Walde und auf den Holzstapelplätzen vorhanden. Ihr Schaden ist sehr umfangreich, ihr Wachstum rasch und ihre Holzzersetzung äußerst intensiv. Robert Hartig gab 1876 die erste nähere Beschreibung der Holzzersetzung durch Stereum hirsutum und Thelephora perdrix (Stereum frustulosum). Tuzson hat dann 1902 das Ersticken des Buchenholzes durch Stereum purpureum beschrieben. Erst 1909 sind durch Münch besondere Infektionsversuche auch über einige Stereum-Arten gemacht worden. 1927 hat Bavendamm einige Ergebnisse im Einverständnis mit Münch korrigiert. 1923 machten Lehmann und Scheible quantitative Untersuchungen über die Holzzersetzung der Pilze und untersuchten dabei auch Stereum

purpureum. In neuester Zeit haben noch Spaulding in Nordamerika und Cartwright. Findlay, Thaysen und Bunker in England u. a. Untersuchungen über einige Stereum-Arten veröffentlicht.

Besondere Aufmerksamkeit wurde dann durch einige pathologische Erscheinungen auf die Stereumarten gelenkt. Aderhold beschrieb 1895 den sog. Milchglanz der Blätter des Steinobstes. Man nahm Stereum purpureum als den Erreger dieser Krankheit an. Güssow, Brooks, Percival und Smolak untersuchten fernerhin diese Erkrankung sehr genau.



Abb. 1. St. rugosum an einer stehenden Buche. Man sieht deutlich die Infektion an der durch Entfernen der einen Zwieselhälfte entstandenen Wunde.

Potter entdeckte 1901 an Eichen in Schottland Krebsbildungen, als dessen Erreger er eine neue Stereum-Art ansah. Liese beschrieb dann 1930 krebsartige Erkrankungen an Eichen in Deutschland.

Ich will in vorliegender Arbeit versuchen, die vorhandenen Ergebnisse zusammenzufassen und einige Lücken auszufüllen.

I. Teil.

Systematik, Vorkommen und Beschreibung.

1. Bestimmungstabelle für die verschiedenen Arten. Stereum Fries.

Fruchtkörper lederartig oder holzig, anliegend oder randartig bis muschelförmig abstehend, immer aus drei Schichten, Hymenium, Mittelgewebe- und Rindenschicht bestehend. Hymenium eben, nur aus Basidien gebildet, oft von Saftgefäßen durchzogen, aber ohne Borsten und Cystiden. Sporen stets einzellig, farblos und länglich.

A. Nur an Laubholz.

1. Pilz nach Verletzung blutend:

a) Fruchtkörper starr, korkig, meist völlig anliegend, selten bei mehrjährigen Pilzen kleine halbabstehende Hütchen bildend. Mehrjährige Pilze

haben oft sehr viele, je nach Alter, übereinanderliegende Schichten. Hymenium gelbbraun, im Querschnitt etwa 90 μ breit. Sporen farblos, 4—5 : 8—10 μ, Sterigmen 1½—2 μ lang. Sehr häufig, besonders an Buche und Heimbuche: S t e r e u m r u g o s u m (Pers.).

b) Fruchtkörper dünnhäutig, anliegend, halbabstehend oder in dachziegelförmigen Rasen. Hymenium rostbraun, etwa 75 μ breit. Sporen farblos, 2½—3 : 5—6 μ, Sterigmen 5 μ lang. Ziemlich häufig an Eichen: S t e r e u m g a u s a p a t u m (Fr.).



Abb. 2. Fruchtkörper von St. g a u s a p a t u m, an der Hirnfläche eines Eichenstammes, an dem man deutlich die weiße Wachstumszone bemerkt.

2. P i l z n a c h V e r l e t z u n g u n v e r ä n d e r t:

a) Fruchtkörper dünnhäutig, lederartig, anliegend oder halbabstehend, oben filzig, gezont. Hymenium lebhaft purpurn oder violett, später in braun verblassend. Sporen farblos, 2½—3½ : 6—7 μ. An Laubholz häufig, besonders an Buche: S t e r e u m p u r p u r e u m (Pers.).

b) Fruchtkörper meist zum größten Teil abstehend, oben zottig-filzig gezont. Hymenium sattgelb bis rotgelb, trocken etwas verblaßt. Sporen farblos, 2½—3 : 5—7 μ. Sehr häufig, besonders an Eiche, Buche und Hainbuche: S t e r e u m h i r s u t u m (Fr.).

B. N u r a n N a d e l h o l z.

Pilz nach Verletzung blutend. Fruchtkörper anliegend oder aus seitlichen, dachziegelig übereinanderliegenden Hüten bestehend, an der oberen Seite filzig, konzentrisch gezont, oft wellig kraus. Hymenium hellbräunlich bis grau, im Querschnitt etwa 140 μ breit. Sporen einseitig gekrümmt, farblos, 2—3 : 7½—8 μ. Sehr häufig, besonders an Fichte: S t e r e u m s a n g u i n o l e n t u m (Fr.).

Vorkommen und Verbreitung der von mir untersuchten Stereum-Arten.

Stereum gausapatum: Kommt hauptsächlich an Eiche vor, seltener an anderen Laubhölzern. Pilàt fand St. gausapatum noch an Acer campestre, Carpinus betulus, Fagus silvatica, Cast. vesca. Der Pilz hat zirkumpolare Verbreitung in der gemäßigten Zone der nördlichen Halbkugel.

Stereum rugosum: Kommt vor an fast allen Laubhölzern, besonders an Carpinus, Fagus. Außerdem auch zu finden an Quercus, Corylus, Alnus, Betula, Sorbus, Salix; seltener an Rhamnus frangula,



Abb. 3. Fruchtkörper von St. purpureum an der Hirnfläche eines Buchenstammes.

Pterocarya, Lonicera, Fraxinus. Bourdot et A. Galzin fanden den Pilz, wenn auch sehr selten, an Abies pectinata.

Der Pilz ist zirkumpolar in den gemäßigten Zonen beider Halbkugeln.

Stereum sanguinolentum: Kommt fast an jedem Nadelholz vor. Ich fand ihn an Pinus silvestris, P. strobus, Abies pectinata, Larix europea, Tsuga canadensis, Thuja gigantes, Chamaecyparis pisifera, Picea excelsa, Pseudotsuga. Kommt in der nördlichen gemäßigten Zone vor.

Stereum hirsutum: Kommt besonders häufig auf Quercus und Fagus vor, sonst auch auf Betula, Prunus, Alnus, Rosa; seltener Lonicera, Aesculus, Castanea, Acer, Ulmus, Sorbus, Salix, Sambucus, Fraxinus. Bourdot et Galzin fanden den Pilz auch selten an Pinus, Pilàt an Pinus banksiana und strobus. Ist überall auf der nördlichen und südlichen gemäßigten Zone verbreitet.

Stereum purpureum: Kommt am meisten auf Fagus vor, sonst auch auf Pirus, Populus, Betula, Salix, Sorbus, Alnus, Corylus, Tilia, Quercus, Carpinus, Acer, Crataegus, Ailanthus. Ich fand St. purpureum auch auf Juglans regia. Außerdem in Hamburg auf dem Holzlager von Schlohbach auf Gabun, Aucoumea Kleineana und „Afrikanisch Birnbaum", Coula edulis. Der Pilz ist wahrscheinlich kosmopolitisch, aber meist zirkumpolar auf der nördlichen Halbkugel verbreitet.

Bestimmungsschlüssel der Stereum-Arten nach ihrem Myzel.

Diesen Schlüssel habe ich nach Beobachtungen des Wachstums der verschiedenen Stereum-Arten auf Brot, Biomalzagar und Holz zusammen-



Abb. 4. St. hirsutum auf Buchenaststück.

gestellt. Einige Myzelbeschreibungen finden sich schon bei Cartwright und Findlay und auch bei Bavendamm.

Anfangs weiß, locker, verhältnismäßig langfädig. Aber sehr schnell leuchtend gelborange werdend. Zuletzt dunkelnd, braune Zonen bildend und kompakt werdend: Stereum hirsutum.

Sofort gelbbraun-orange. Ziemlich langfädig. Später mit zimtfarbigen Spitzen, immer locker bleibend: Stereum frustulosum.

Immer schneeweiß bleibend, langfädig, wie lockere Watte. Manchmal violette Zonen bildend: Stereum purpureum.

Anfangs locker, kurzfädig, flaumig, oft leicht gekräuselt, grauweiß. Später kompakt werdend, gelbbraune Zonen bildend: Stereum rugosum.

Weiß, kompakt, später braune Zonen bildend: Stereum gausapatum.

Anfangs weiß, locker. Später rotbraun, kompakter werdend: Stereum sanguinolentum.

2. Beschreibung des mikroskopischen Bildes.

Allgemeines.

Macht man einen Querschnitt durch den Fruchtkörper der verschiedenen Stereaceen, so kann man deutlich in jedem Fall drei Schichten unterscheiden, die Hymenium-, die Mittel- (oder Trama) und die Rindenschicht. Die Hymeniumschicht zerfällt in Hymenium und Subhymenium. Letzteres ist oft nur schwach ausgebildet. Das Hymenium besteht aus palisadenartig

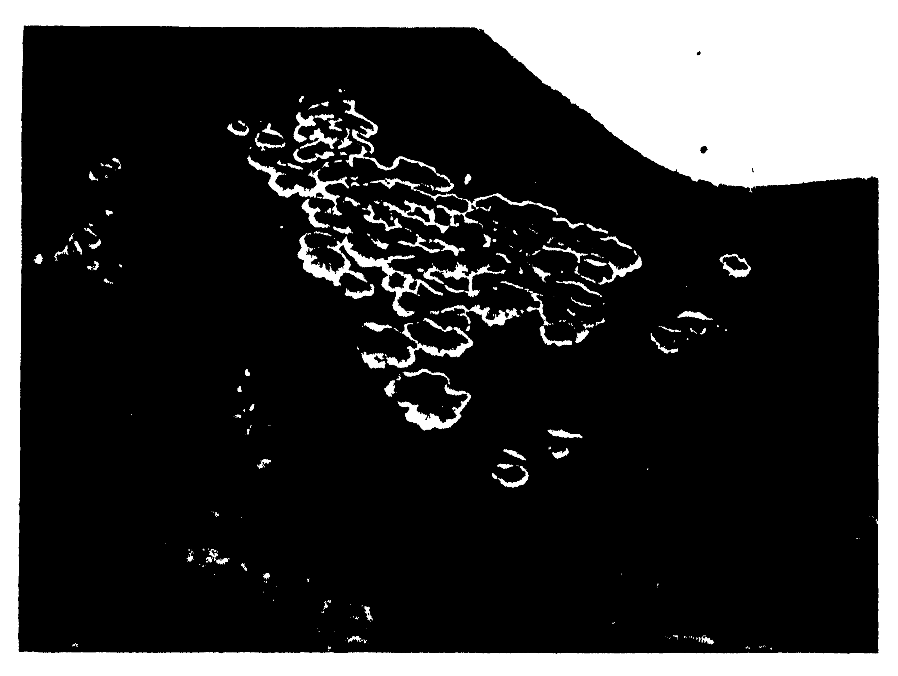


Abb. 5. Fruchtkörper von St. sanguinolentum an der Hirnfläche von Fichtenscheitholz.

angeordneten Basidien, zwischen denen oft verschieden hochreichende Saftgefäße zu sehen sind. Die Mittelschicht besteht aus parallel laufenden dünneren Hyphen und einigen dickeren, welche anfangs parallel laufend, bald nach oben in das Hymenium einbiegen. Die Rindenschicht besteht aus verfilzten Hyphen oft mit verstärkter Membran, von denen einige als Behaarung ziemlich parallel geordnet auf der Oberfläche der Fruchtkörper herausstehen.

Die einzelnen Arten.

Stereum gausapatum: Die Hymeniumschicht ist bräunlich. Das Subhymenium ist nur schwach sichtbar und grau. Die Safthyphen sind rotbraun. Die Mittelschicht hellweißlich, die Rindenschicht und Behaarung sattbraun. Die Haare sind verhältnismäßig lang. Die Basidien sind 3—5 μ dick und tragen meist zwei gerade dünne Sterigmen von 3—4 μ

Länge. Auf diesen sitzen länglich-ovale, farblose Sporen, die an der Basis etwas schief zusammengezogen sind und 2½—3 : 5—6 μ groß sind. Die Basidienbreite beträgt etwa 4 μ. Die Spitze der Basidien ist etwas keulig angeschwollen und die Membran verdickt. Die Safthyphen sind 3—3½ μ breit.

S t e r e u m   r u g o s u m: Die Hymeniumschicht 1jähriger Fruchtkörper ist weißlich, wie die Mittelschicht. Die Saftgefäße sind braun, die

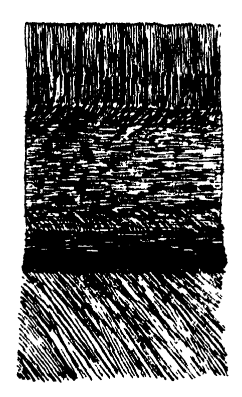


Abb. 6. Stereum gausapatum. Querschnitt durch einen Fruchtkörper.

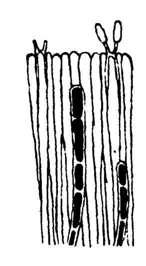


Abb. 7. Hymenium mit zwei Safthyphen.

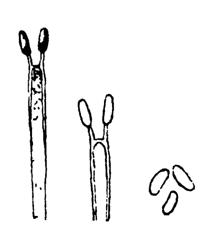


Abb. 8. Basidie mit Sporen.

Rindenschicht dunkelbraun, mit sehr kurzer Behaarung. Bei mehrjährigen — ich fand einen 20jährigen Fruchtkörper — wird das sonst nur schwach ausgebildete Subhymenium dunkelbraun, da die Membran der Hyphen genau wie in der Rindenschicht verdickt wird. Die Basidien sind keulig

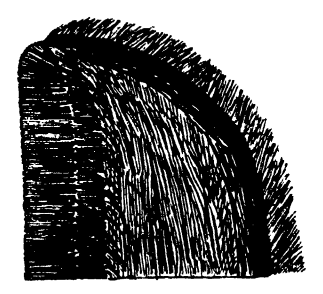


Abb. 9. Stereum rugosum. Querschnitt durch einen Fruchtkörper.



Abb. 10. Hymenium mit zwei Safthyphen.

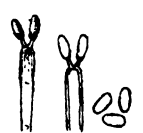


Abb. 11. Basidie mit Sporen.

angeschwollen, haben eine verdickte Membran und tragen meist zwei nur 1½—2 μ lange Sterigmen. Die farblosen Sporen sind ziemlich groß, elliptisch und 3—4 : 8—10 μ groß. Die Basidienbreite ist 4—5 μ, die Safthyphenbreite ebenfalls. An Querschnitten kann man auch sehr gut sehen, wie der Pilz bemüht ist, sich der Unterlage anzuschmiegen. Dies geschieht dadurch, daß die Mittelschicht breiter oder dünner wird, während die übrigen Schichten gleich breit bleiben.

Stereum sanguinolentum: Das Hymenium ist weißrötlich oder schwach bräunlich. Das Subhymenium ist nur schwach sichtbar und grauweißlich, die Mittelschicht weißlich, die Rindenschicht gelb, hellbräunlich und nicht scharf ausgeprägt, die Behaarung verhältnismäßig kurz

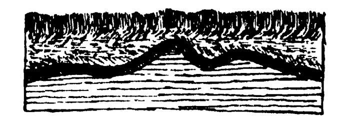


Abb. 12. Querschnitt zeigt das Anschmiegen an die Holzunterlage.



Abb. 13. Stereum sanguinolentum. Querschnitt durch einen Fruchtkörper.

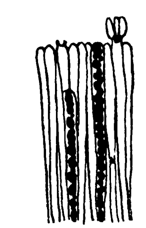


Abb. 14. Hymenium mit zwei Safthyphen.

Abb. 15. Basidie mit Sporen.

und gelbbräunlich. Die Basidien sind an der Spitze oft ziemlich stark keulig angeschwollen, haben eine verstärkte Membran und tragen 2 oder 3 nur sehr kurze 1 μ lange Sterigmen. Die Sporen sind farblos, an der Basis schmal und spitz zusammengezogen und 2—3 : $7\frac{1}{2}$—8 μ groß. Die Basidien sind 5—6 μ breit, die Safthyphen haben meist einen körnigen Inhalt und sind etwa 5 μ breit.

Stereum hirsutum: Das Hymenium ist lebhaft gelb gefärbt, die Safthyphen sind dunkelgelb. Das Subhymenium ist stark ausgeprägt und lebhaft dunkelgelb gefärbt. Die Mittelschicht ist weißlich, die Rindenschicht leuchtend goldbraun, die Behaarung gelblich und sehr lang. Die Basidien



Abb. 16. Stereum hirsutum. Querschnitt durch einen Fruchtkörper.

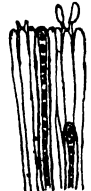


Abb. 17. Hymenium mit zwei Safthyphen.

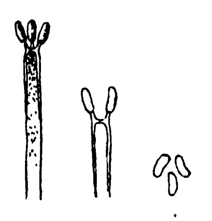


Abb. 18. Basidie mit Sporen.

sind etwa 4 μ breit, haben an der Spitze eine verstärkte Membran und tragen 2—3 ziemlich kurze, 2 μ lange Sterigmen. Die Sporen sind ziemlich klein, farblos, an der Basis etwas zusammengezogen, an der einen Seite abgeplattet und $2\frac{1}{2}$—3 : 5—7 μ groß. Die Saftgefäße haben eine sehr dicke

Membran, die nur einen schmalen Mittelgang freiläßt, der oben ein wenig weiter wird und mit gelben Tröpfchen angefüllt ist. Sie sind 4—6 μ breit.

Stereum purpureum: Das Hymenium ist weißlich, wie die Mittelschicht. Das Subhymenium ist in der Jugend leuchtend purpurviolett und wird später bräunlich. Unter dem Subhymenium sind in der Mittelschicht sehr dick angeschwollene Hyphenenden, die bei älteren Fruchtkörpern aufgeplatzte Fetzen sind. Die Rindenschicht ist ziemlich dick und dunkelbraun bis schwarzbraun, die Behaarung von gleicher Farbe und sehr lang. Die Basidien sind an der Spitze keulig angeschwollen, haben eine verstärkte Membran und tragen 2—3 ziemlich kurze, 2 μ lange Sterigmen. Die Basidienbreite beträgt etwa 4—5 μ. Die Sporen sind farblos, an der



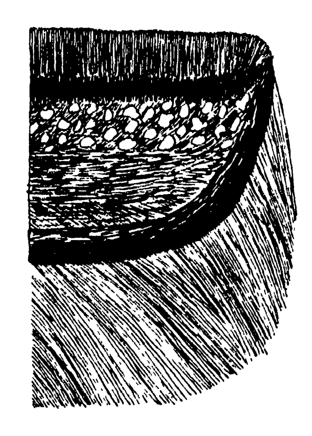


Abb. 19. Stereum purpureum. Querschnitt durch einen jungen Fruchtkörper alten Fruchtkörper.



Abb. 20. Entwicklung der Safthyphen.



Abb. 21. Hymenium.

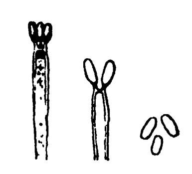


Abb. 22. Basidie mit Sporen.

einen Seite abgeplattet und $2\frac{1}{2}$—$3\frac{1}{2}$: 6—7 μ groß. Die Safthyphen entwickeln sich folgendermaßen: Zuerst schwellen in der ersten Jugend Hyphenenden in der Mittelschicht unter dem Subhymenium an, werden bald sehr dick birnförmig und füllen sich prall mit Plasma. Schließlich verfallen sie und man sieht dann beim ausgewachsenen Fruchtkörper die bekannten, etwa 30 : 45 μ großen Fetzen.

Form, Wachstum und Übersommerung der Fruchtkörper der Stereum-Arten.

Die Grundform der Gattung Stereum hat anliegende Fruchtkörper, wie z. B. St. rugosum. Manchmal wird der Rand der Fruchtkörper ein wenig abgehoben und sehr kleine Hütchen gebildet, wie ich dies seltener bei St. rugosum beobachten konnte. Das Abheben des Randes und das Ausbilden von Hüten schreitet dann weiter fort, bis ungefähr die Hälfte abgehoben ist, z. B. bei St. hirsutum, gausapatum, sanguinolentum, purpureum. Das Endstadium sind nur seitlich angewachsene bis gestielte Fruchtkörper tropischer Arten. Das Wachstum geschieht dadurch, daß die Hyphen der Mittelschicht den Rand durchbrechen und so die Fruchtkörper jährlich vergrößern. Man kann so das Alter der Hüte an den noch deutlich im Innern angedeuteten dunkleren ehemaligen Rindenzonen bestimmen. Ich glaube aber, daß die Fruchtkörper der Hüte bildenden Stereum-Arten nur selten 3—4 Jahre alt werden, wie


Abb. 23. Stereum rugosum. Querschnitt durch einen 20jährigen Fruchtkörper.

ich dies bei St. hirsutum beobachten konnte. Das höchste Alter erreicht die anliegende Art St. rugosum, wo sich eine Hymeniumschicht über die andere legt und ich ebenso wie Pilàt 20jährige Fruchtkörper von 5 mm Dicke fand. Nach meinen mehrjährigen Beobachtungen vergrößern sich die Fruchtkörper aller Stereum-Arten schon früh im Herbst, etwa in den Monaten Oktober, November. Auch werden zu dieser Zeit die meisten neuen Fruchtkörper gebildet. Die stärkste Sporenentwicklung aber war immer erst im Februar und März, nachdem die Fruchtkörper schon lange ihr Wachstum eingestellt hatten.

Während St. rugosum sich durch Anschmiegen an die Unterlage und durch korkähnliche Verdickung der Membranen in den alten Hymeniumschichten, genau wie bei der Rindenschicht, gegen zu starkes Austrocknen während der Sommermonate zu schützen scheint, scheinen bei den anderen Stereum-Arten mit abstehenden Hüten die Haarhyphen der Oberfläche diesen Zweck zu erfüllen. Ich fand wenigstens, daß St. hirsutum im Sommer dank seiner relativ längsten Behaarung seine Fruchtkörper am besten erhielt, manchmal sogar an den der Sonne ausgesetzten Orten. Auch St. gausapatum und purpureum waren oft mehrjährig, während ich bei St. sanguinolentum, das die kürzeste Behaarung hat, nie lebensfähige, vorjährige Fruchtkörper fand.

II. Teil.

Beobachtungen und Untersuchungen.

3. Chemische Untersuchungen, vornehmlich über das sog. „Bluten".

Die chemischen Angaben über Stereum-Arten sind in der Literatur recht spärlich. Pilàt spricht von Milchhyphen, die erst parallel der Mittelschicht verlaufen, sich dann aber bald nach oben biegen und als Cystiden im Hymenium endigen. „Diese", so sagt er weiter, „gleichen morphologisch den Milchhyphen der Gattung Lactarius, wenn sie auch einen anderen Inhalt haben. Ihre Funktion ist aber ähnlich, da sie exkretorische und sekretorische Organe darstellen. Der Zellinhalt der Cystiden hat eine mehr oder weniger gummiartige Konsistenz, im Alter ist er etwas eingetrocknet, so daß er durch Querrisse zerrissen erscheint. Manchmal enthält er einige Stoffe, welche an der Luft schnell oxydieren und sich danach färben. Durch diese Oxydation ist die Sektion Cruentata ausgezeichnet. Diese Stoffe sind nur in Lösungen oxydierbar. Das ausgetrocknete Sekret ist nicht farbenveränderlich, weshalb die ausgetrockneten Fruchtkörper ihre Farbe nicht wechseln. Nach Anfeuchten, selbst noch nach einigen Jahren, sind diese Stoffe wieder oxydationsfähig. Auf dieses Prinzip gründet sich das Bluten des Hymeniums der Sektion Cruentata, hauptsächlich nach der Beschädigung, wenn die Stoffe der inneren, geschlossenen Zellen in Berührung mit Sauerstoff kommen. Nach längerer Zeit oxydieren sich diese eingeschlossenen Stoffe teilweise von selbst. Die alten Fruchtkörper bluten sehr wenig

deshalb, sie färben sich dann eher braun. Ebenso bluten die alten, trockenen Fruchtkörper nach dem Erweichen nicht so intensiv. Die Färbung ist dann nicht so intensiv rot, sondern eher rostbraun. Bei der Oxydation bilden sich erst intensiv rote Stoffe, welche dann braun werden. Diese braunen Stoffe entstehen wahrscheinlich aus jenen roten Stoffen."

„Die hervorragendste Art ist in dieser Hinsicht St. sanguinolentum, wo Albertini und Schweinitz schon das Bluten beobachteten. Ebenso kommt dies bei jungen Fruchtkörpern von St. rugosum vor. In erwachsenen Fruchtkörpern ist der Farbstoff schon zerlegt und das Bluten daher weniger auffällig. Etwas weniger auffallend ist das Bluten bei St. gausapatum, nicht weil es schwächer wäre, sondern weil das Hymenium viel dunkler gefärbt ist."

„Anatomisch ganz ähnliche Cystiden kommen bei den nicht blutenden Arten vor, z. B. bei St. hirsutum, St. fuscum und St. fasciatum. Aber der plasmatische Inhalt enthält keine Stoffe, deren Oxydate farbig sind."

Diese Beschreibung ist zwar sehr ausführlich und stimmt im wesentlichen mit meinen Beobachtungen überein, aber nähere chemische Angaben fehlen.

Gustav Oehm erwähnt kurz Gerbstoffsaft-Hyphen der Stereum-Arten. Friedrich Czapek spricht auch von Gerbstoffhyphen bei Stereum. Letztere Angaben fußen auf einem Artikel von Viktor Kindermann, der als einziger Forscher selbst chemische Untersuchungen gemacht zu haben scheint. Die Angaben von Istvanffy sind in dieser Beziehung wertlos.

Kindermann sagt: „Der Inhalt frischer Gerbstoffhyphen zeigt unter dem Mikroskop eine rotbraune Färbung. Bei seinem Austritt aus der Hyphe wird derselbe offenbar durch einen Oxydationsprozeß rasch blutrot. Er besteht aus einer homogenen Flüssigkeit, in der zahlreiche heller oder dunkler gefärbte Öltropfen schwimmen. Letztere verschwanden sehr leicht durch die Einwirkung von absolutem Alkohol. Gerbstoffe bilden den Hauptbestandteil dieser Flüssigkeit. Bei Behandlung mit Eisenchlorid färbte sich der Inhalt intensiv dunkelgrün. Auch die Gerbstoffreaktion mit Kaliumoxyd gelingt; sie ist jedoch schwerer zu beobachten, weil die Gerbstoffhyphen schon von Natur aus eine rotbraune Färbung zeigen."

Weitere chemische Angaben finden sich nicht. Meine Untersuchungen ergaben folgendes:

Unter dem Mikroskop sieht man in den Safthyphen dunkelbraune Öltröpfchen, die von einer dünnflüssigeren, helleren Flüssigkeit umgeben sind. Dies ist in gleicher Weise bei St. sanguinolentum, St. gausapatum und St. rugosum der Fall. Bei St. hirsutum sind die Öltröpfchen in den Safthyphen leuchtend gelb, und es ist keine umgebende Flüssigkeit zu erkennen. Drückt man auf frische Fruchtkörper, so tritt nur die Flüssigkeit heraus in die umgebende Basidienzone und an die Oberfläche, während die Öltropfen im allgemeinen in den Safthyphen bleiben. Diese Flüssigkeit wird an der Luft sofort blutrot, hinterher allmählich, scheinbar durch Oxydation braunschwarz. An der Luft ist dies etwa nach 1 Min. der Fall.

Legt man die Fruchtkörper in flüssiges Paraffin und entfernt im Exsikkator die Luft durch eine Wasserstrahlpumpe, so bluten die Pilze nach einer Verletzung in dem Paraffin nicht und röten sich erst nach Herausnahme

an der Luft. Entfernt man dagegen die Luft nicht, so tritt eine Rötung auch im Paraffin ein. Ebenso ist dies in normalem Wasser und Glyzerin der Fall. Das Bluten muß also ein Oxydationsvorgang einer farblosen Flüssigkeit sein, wobei schon ganz geringe Mengen von Luft genügen.

Die ersten Hinweise über den Inhalt der Safthyphen erhielt ich durch Versuche mit Färbungsmitteln. Methylenblau und Eosin ergaben keine Differenzierungen. Dagegen hatte ich mit Sudan III (Sudan III 0, I; Alkohol 10, Glyzerin 10) Erfolg. Frische Querschnitte durch den Fruchtkörper wurden in 50proz. Alkohol ausgewaschen und in Glyzerin betrachtet. Sowohl bei St. sanguinolentum, St. gausapatum und St. rugosum wie auch bei St. hirsutum wurden die Tröpfchen in den Safthyphen schön rot gefärbt. Dasselbe war der Fall, nachdem die Schnitte vorher mit Eau de Javelle gebleicht waren. Bei 1% Osmiumsäure ergab sich folgendes: Die Schnitte wurden mit Eau de Javelle gebleicht, Wasserdämpfen ausgesetzt und danach 1% Osmiumsäure hinzugegeben. Erst nach Hinzugabe von Salzsäure trat eine Schwärzung vornehmlich des Subhymeniums und der Safthyphen ein. Wasserstoffsuperoxyd entfärbte sofort. Nachdem die Osmiumsäure mit Wasser ausgewaschen war, konnte ich wieder sehr schön mit Sudan III färben. Da Eau de Javelle Gerbsäure auswäscht, kann die Schwärzung durch Osmiumsäure nicht von Gerbstoffen herrühren. Dagegen zeigt dies, daß die Tröpfchen aus Fetten zu bestehen scheinen. Auch im Subhymenium scheinen Fette zu sein.

Sodann machte ich mikrochemische Untersuchungen besonders auf Gerbstoffe an Schnitten von frischen Fruchtkörpern. Eisenchlorid, Ferrisulfat, Kaliumbichromat und Chromsäure zeigten nicht das geringste Ergebnis. Diese Untersuchungen wurden zu den verschiedensten Jahreszeiten ausgeführt. Auch Extraktionen zerkleinerter Fruchtkörper mit dest. Wasser reagierten nicht darauf.

Alles spricht gegen das Vorhandensein von Gerbstoffen!

Wie konnte Kindermann trotzdem zu der Annahme vom Vorhandensein von Gerbstoffen kommen?

Nach seiner eigenen Angabe verwandte er als Konservierungsflüssigkeit eine Mischung von Wasser und Karbolsäure, oder auch von Wasser, Glyzerin und Karbolsäure. Nun reagiert aber Eisenchlorid auch auf die geringsten Spuren von Karbolsäure sehr intensiv. Was die Reaktion von „Kaliumoxyd" anbelangt, so gibt Kindermann selber zu, daß sie schwer zu beobachten sei.

Nach Angaben von Oehm soll verdünnte Schwefelsäure Milchgefäße in Pilzen grau färben. Die Safthyphen wurden aber bei allen Stereum-Arten nicht grau.

Eine nähere Untersuchung des austretenden roten Saftes zeigte, daß dieser sich nicht in Alkohol, Glyzerin, Xylol löste, wohl aber in kaltem Wasser. Lackmuspapier wurde schwach gerötet. Außerdem wurden die Fruchtkörper von St. sanguinolentum, St. rugosum und St. gausapatum durch Verletzung zum Bluten gebracht und dann in Benzidin getaucht. Dieses und die blutenden Stellen wurden violett. Verletzte Fruchtkörper von St. hirsutum und St. purpureum

zeigten diese Reaktion nicht. Mikroskopische Untersuchungen an frischen Schnitten zeigten fernerhin, daß Benzidin bei den blutenden Arten die Flüssigkeit, die teils herausgetreten, teils noch in den Hyphen war, dunkler violettrot färbte. Außerdem wurde das Hymenium und besonders das Subhymenium gefärbt. Ebenso reagierte Guajakol. Bei St. hirsutum wurden dagegen die Safthyphen nicht gefärbt, wohl aber Hymenium und Subhymenium. Ein Extrakt der Fruchtkörper der Stereum-Arten mit destilliertem Wasser wurde ebenfalls von Guajakol und Benzidin gefärbt. Nach Aufkochen reagierten Benzidin und Guajakol nicht, da Oxydasen bei Erhitzung zerfallen. In den Fruchtkörpern aller Stereum-Arten sind also Oxydasen nachzuweisen, in den Safthyphen aber nur bei den blutenden Arten.

Eine andere auffallende Erscheinung konnte ich bei Kulturen aller Stereum-Arten beobachten.

Das Myzel schied nach einiger Zeit auf Brot, Biomalzagar, Tanninagar, Eichenholz, Buchenholz und Fichtenholz, auch Mohrrüben meist dunkelbraun gefärbte Tropfen ab. Diese trocknen gummiartig ein. Ferrisulfat und Kaliumbichromat färben sie nicht. Gerbstoffe sind also nicht in den Tropfen vorhanden. Salzsäure, verdünnte Schwefelsäure und Ammoniak ließ sie unverändert. Äther, Benzol, Azeton, Xylol löste nicht. Chloroform und kalter Alkohol nur wenig. Kaltes Wasser löste langsam. Durch Erhitzen wurde das Lösen beschleunigt. Die Wasserlösung reduzierte Fehlingsche Lösung. Mit Phloroglucin-Salzsäure erfolgte keine Färbung. Wies die Fehlingsche Lösung auf Zucker hin, so deutete die Phlorogluzin-Salzsäure auf Glukose. Diese Glukose ist wahrscheinlich in gebundener Form als Glukosid vorhanden. Diese Glukosezuckerarten scheinen sich als Zwischenprodukt zuerst zu bilden, um später vielleicht im Hymenium in den Safthyphen in Fette überzugehen. Czapek erwähnt diesen Vorgang bei anderen Pilzen. Die erfolgreiche Färbung mit Sudan III scheint dies bei den Stereum-Arten zu bestätigen. Ein Alkohol-, Chloroform- und Ätherauszug der zerkleinerten Fruchtkörper aller Stereum-Arten hatte einen Fettrückstand, der mit Wasser eine Emulsion bildete. Untersuchungen der Pilzextrakte ergaben, daß Stärke und Glykogen, die sich sonst öfter bei anderen Pilzarten finden, nicht vorhanden sind, da Jodjodkalium stets negativ reagierte. Dagegen wies Millons Reagens durch rotkäsigen Niederschlag Eiweißstoffe nach.

Nach der Beobachtung der Stoffwechselprodukte untersuchte ich, ob irgendwelche Enzyme, Oxydasen und Peroxydasen ausgeschieden werden, um die Nährsubstrate zu zersetzen und zu oxydieren.

Nach Bavendamm soll sich zum Oxydasennachweis bei Pilzen besonders Tannin und Gallussäure durch Hofbildung eignen. Nach seinen Angaben setzte ich 0,5% Tannin und ein andermal 0,5% Gallussäure zu Biomalzagar. In beiden Fällen bildete sich sowohl bei St. sanguinolentum, St. rugosum, St. gausapatum wie bei St. hirsutum und purpureum ein sehr deutlicher, dunkler Hof. Vorher konnte man natürlicherweise mit Eisenchlorid und Kaliumbichromat die Gerbstoffe im Agar nachweisen. Die dunklen Zonen aber reagierten nicht mehr darauf. Dies beweist eine Zersetzung der Gerbstoffe durch das Pilzmyzel; wie schon Bavendamm vermutet hatte. Ebenso war es bei Eichenholzextrakt, das vorher deutlich Gerbstoffreaktionen gab, nach 3 Monaten nach der Impfung mit Stereum-Arten aber nicht mehr reagierte.

Auch mit Benzidin und Guajakol konnte ich in Eichenholzextrakt sowie in Hagenscher und Brownscher Nährlösung Oxydasenausscheidung der Myzele aller Stereum-Arten nachweisen. Benzidin bildete nach 10 Min. eine schwarze Zone am Myzel und Guajakol eine rote Zone.

Zusammenfassung.

1. Gerbsäure ist entgegen der Ansicht von Kindermann in den Hyphen und Fruchtkörpern der Stereum-Arten nicht vorhanden.
2. Stärke und Glykogen fehlen ebenfalls.
3. Die Fruchtkörper enthalten Fette und Eiweißstoffe.
4. Ein Zwischenprodukt der Zersetzung scheint Glukose zu sein, die oft in Tropfen vom Myzel ausgeschieden wird.
5. Gerbsäuren im Substrat werden zersetzt.
6. Das Myzel der Stereum-Arten scheidet zur Zersetzung des Substrates Oxydasen aus. Diese Oxydasen sind auch in den Fruchtkörpern vorhanden.
7. Die Safthyphen in den Fruchtkörpern sind keine Milchgefäße.
8. Die Safthyphen enthalten Öltropfen. Diese Öltropfen sind von einem farblosen Saft umgeben.
9. Dieser farblose Saft wird durch Oxydation bei St. gausapatum, St. rugosum und St. sanguinolentum an der Luft blutrot. Dies scheint durch die vorhandenen Oxydasen bewirkt zu werden.
10. Bei St. hirsutum und St. purpureum erhält man keine Farbreaktion. Die Oxydasen scheinen zu fehlen.
11. Auffallend ist, daß nur die Stereum-Arten mit unscheinbar gefärbten Fruchtkorpern und grauem Subhymenium nach Verletzung bluten, während die lebhaft gefärbten Stereum-Arten mit leuchtendem Subhymenium dies nicht tun.

4. Wachstumsbeobachtungen.

In der freien Natur.

Auf welchen Holzgewächsen speziell die einzelnen Stereum-Arten vorkommen, ist schon im ersten systematischen Teil dargelegt. St. sanguinolentum kommt in der Natur nur auf den verschiedenen Nadelholzarten, St. gausapatum, rugosum, hirsutum, purpureum, von einigen Ausnahmen abgesehen, auf den verschiedenen Laubholzarten vor, wobei von den einzelnen Arten ein bestimmtes Holz bevorzugt wird. St. sanguinolentum bevorzugte Fichte, St. gausapatum fand ich nur an der Eiche, St. rugosum am meisten an der Buche und Hainbuche, St. purpureum am häufigsten an der Buche, St. hirsutum am häufigsten an der Eiche und Buche, und St. frustulosum nur an der Eiche. Wenn mehrere Holzarten befallen werden, so sind es immer verwandte Arten von anatomisch sehr ähnlichem Holzaufbau. Dieses Verhalten der einzelnen Stereum-Arten prüfte ich in Kulturen nach und versuchte die Ursachen festzustellen.

In Kulturen.

1. Zuerst zog ich mir Reinkulturen, indem ich die Mittelschicht der Fruchtkörper, die ich draußen in der Umgegend von Hann.-Münden fand, auf Biomalzagar in Röhrchen impfte. Alle Stereum-Arten wuchsen freudig.

ebenso auch auf Mohrrüben und Brotstückchen. Im November bildeten sie sogar schon 10 Tage nach dem Überimpfen von einer Brotkultur auf frische Brotstückchen Fruchtkörper.

2. Schon Bavendamm und Liese erwähnen, daß verschiedene Pilze, die in der Natur Spezialisten sind, aus Reinkultur gezogen, auch andere Holzarten sehr gut angreifen; ja daß sogar Nadelholzspezialisten auf Laubholz leben und umgekehrt. Diese Erscheinung prüfte ich bei den Stereum-Arten zuerst nach, indem ich die einzelnen Pilzmyzele auf sterile Holzklötzchen in Erlenmeyer-Kolben impfte. Es ergab sich folgendes Bild auf Impfungen vom 13. Februar 1931:

Stereum rugosum wuchs:

auf Eiche sehr gut
„ Buche sehr gut
„ Fichte nur schwach
} Mitte Oktober wurden Fruchtkörper gebildet.

Stereum gausapatum

auf Eiche sehr gut,
„ Buche schwach,
„ Fichte fast gar nicht.

Stereum hirsutum

auf Eiche sehr gut
„ Buche sehr gut
} Mitte Oktober wurden Fruchtkörper gebildet.
„ Fichte gut } Im Januar wurden Fruchtkörper gebildet.

Stereum purpureum

auf Eiche gut,
„ Buche gut,
„ Fichte nur sehr schwach.

Stereum sanguinolentum

auf Eiche gut
„ Buche gut
„ Fichte gut
} Mitte Oktober wurden Fruchtkörper gebildet.

Eine beigefügte Abbildung zeigt normal ausgebildete Fruchtkörper von St. sanguinolentum auf Buchenklötzchen:

Stereum frustulosum wuchs:

auf Eiche sehr gut,
„ Buche anfangs gut, dann bald stockend,
„ Fichte nur wenig im Anfang.

3. Man kann sich nun fragen, ob vielleicht irgendwelche chemische Stoffe oder bestimmte Enzyme in der Rinde oder Kambialschicht eine Infektion durch bestimmte Pilze verhindern. Um diese Frage zu klären, schälte ich Fichtenrinde, Buchenrinde, Eichenrinde und Lärchenrinde bis auf das Holz von lebenden Stämmchen und zog die zerkleinerten Stücke mit kaltem Leitungswasser 4 Tage aus. Dieses Extrakt wurde durch ein Hahnsches Bakterienfilter filtriert, um möglichst keimfrei zu werden. Es ergab sich nach Impfen von Pilzmyzel auf Brotstückchen nach 6 Monaten folgendes Bild:

Stereum rugosum wuchs auf Eichenrindeextrakt gut, Buchenrindeextrakt gut, Fichtenrindeextrakt gut.

Stereum gausapatum auf Eichenrindeextrakt gut, Buchenrindeextrakt nicht, Fichtenrindeextrakt nur ganz wenig.

Stereum hirsutum auf Eichenrindeextrakt gut, Buchenrindeextrakt gut, Fichtenrindeextrakt gut.

Stereum purpureum auf Eichenrindeextrakt gut, Buchenrindeextrakt gut, Fichtenrindeextrakt ganz gut, Lärchenrindeextrakt gut.

Stereum sanguinolentum auf Eichenrindeextrakt ganz gut, Buchenrindeextrakt schlecht, Fichtenrindeextrakt gut, Lärchenrindeextrakt gut.

Außerdem machte ich von Buchenrinde und Fichtenrinde warme Auszüge, indem ich einmal 5 Std. auf 65° C erhitzte und am Tage darauf nochmal 3 Std. Das warm ausgezogene Buchenrindeextrakt war dunkler als das kalt ausgezogene. Es ergab sich dasselbe Bild wie vorher; alle Stereum-Arten wuchsen gut, nur St. gausapatum schlecht. St. sanguinolentum wuchs auf dem warm ausgezogenen Buchenrindeextrakt besser als auf dem kalt ausgezogenen.



Abb. 24. Fruchtkörper von St. sanguinolentum auf Buchenklötzchen in Erlenmeyer-Kolben.

4. Um die Frage zu klären, ob der Harzgehalt des Nadelholzes hindernd wirke, nahm ich Fichtenholzstückchen in Röhrchen, die ich mit einer Harzschicht überzog, indem ich sie beim Sterilisieren darüberschmolz. Ich impfte St. sanguinolentum, St. hirsutum, St. rugosum und St. purpureum darauf. Alle Stereum-Arten wuchsen von Anfang an gut und ließen auch später, nach einem Jahr, nicht in ihrem Wachstum nach. Gerade dort, wo die Harzschicht am dicksten, war das Wachstum am besten.

5. Ich kultivierte die verschiedenen Stereum-Arten auch auf flüssigen Nährlösungen.

Ich wählte:

1. Nährlösung nach Hagem (p_H = 6.30).

1000 ccm H_2O,
5 g Glukose,
0,5 „ $MgSO_4$,
0,5 „ KH_2PO_4,
0,5 „ NH_4SO_4,
10 Tropfen 1 proz. $FeCl_3$-Lösung.

2. Nährlösung nach Brown (abgeändert) ($p_H = 6.10$).

1000 ccm H_2O,
2 g Glukose,
2 „ Pepton Witte (statt Asparagin)
1,25 „ KH_2PO_4 (statt K_3PO_4),
0,75 „ $MgSO_4$,
0,75 „ $MgSO_4$

Die Stereum-Arten wuchsen auf beiden Nährlösungen gleich gut. Eiweißstoffe in der Brownschen Nährlösung scheinen also von ebenso geringer Bedeutung zu sein, wie der Eisengehalt der Hagemschen Nährlösung. Zu erwähnen ist allerdings, daß nach 6 Mon. die Pilze die Nährlösung nach Hagem von $p_H = 6,30$ auf $p_H = 4,50$ im Durchschnitt versäuerten, während die Nährlösung nach Brown unverändert dieselbe p_H-Zahl behielt. Dies kommt wahrscheinlich daher, daß die Pilze aus der Nährlösung von Hagem den Stickstoff aus NH_4SO_4 entnehmen, wobei SO_4 frei wird.

6. Zuletzt habe ich das verschiedene Verhalten des Kern- und Splintholzes gegen den Befall der Stereum-Arten untersucht. Ich impfte die Laubholzarten von Biomalzagarkultur auf Buche- und Eiche-Kernholz und Splintholz, das ich in Reagenzgläsern sterilisierte. Ebenso impfte ich St. sanguinolentum auf Fichte-Kern- und Splintholz. Es ergab sich nach 6 Mon. folgendes Bild:

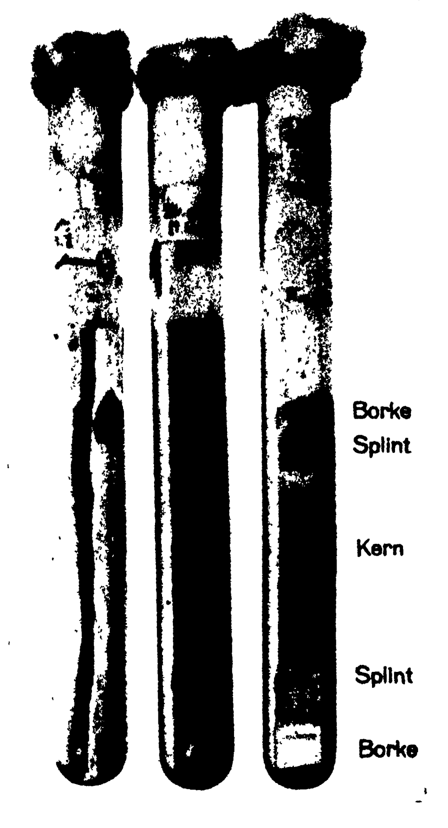


Abb. 25. Wachstum von St. gausapatum auf Eiche-Splint- u. Kernholz.

Stereum gausapatum wuchs auf Eiche-Splintholz gut, Eiche-Kernholz fast gar nicht (siehe Abbildung), Buche-Splintholz gleich gut wie in Buche-Kernholz, aber schwächer als in Eiche-Splintholz.

Stereum rugosum wuchs auf Eiche-Kernholz gar nicht, Eiche-Splintholz gut, Buche-Splintholz gut, Buche-Kernholz gut.

Stereum hirsutum wuchs auf Eiche-Splintholz gut, Eiche-Kernholz schlechter, Buche-Splintholz gut, Buche-Kernholz gut.

Stereum purpureum wuchs auf Eiche-Splintholz ganz gut, Eiche-Kernholz gar nicht, Buche-Splintholz gut, Buche-Kernholz gut.

Stereum sanguinolentum wuchs auf Fichte-Splintholz gut, Fichte-Kernholz schlechter.

Stereum frustulosum wuchs auf Eiche-Splintholz gut, Eiche-Kernholz fast gar nicht, Buche-Splintholz gut, Buche-Kernholz gut.

Es zeigte sich also bei Eiche-Kernholz und Fichte-Kernholz eine Resistenz gegen das Wachstum der Pilze, nicht dagegen bei Buche-Kernholz.

7. Viele Autoren (Wehmer, Bavendamm) führen diese Resistenz auf den höheren Gerbstoffgehalt des Kernholzes zurück. Um dies

zu untersuchen, machte ich aus zerkleinertem Eiche-Kernholz und Eiche-Splintholz Extrakte mit destilliertem Wasser bei 65° C. Ich nahm 60 g Holzstückchen und 250 ccm dest. Wasser. Eine Messung mit Lautenschlägers Ionometer ergab:

Eiche-Kernholzextrakt . . . . . . $p_H = 4{,}18$,
Eiche-Splintholzextrakt . . . . . . $p_H = 4{,}55$.

Ich tat je 30 ccm in einen Erlenmeyer und impfte die Stereum-Arten darauf. Sie wuchsen in beiden Extrakten alle gleich gut. Die Extrakte wurden gebleicht und es zeigte sich, daß die Gerbsäure von den Pilzmyzelen nach 4 Mon. völlig zersetzt war, da Kaliumbichromat und Ferrisulfat nicht mehr reagierten, während aufbewahrte, nicht beimpfte Extrakte sehr stark reagierten und ungebleicht waren.

Bei St. frustulosum trat allein anfangs keine Bleichung auf. Erst nach 6 Mon. wurde auch hier die Gerbsäure zersetzt. Messungen mit Lautenschlägers Ionometer ergaben bei Eiche-Kernholzextrakt eine Abnahme des Säuregrades von $p_H = 4{,}18$ auf $p_H = 4{,}75$—$5{,}45$.

Zusammenfassung.

1. Die von mir untersuchten Stereum-Arten wachsen auf Biomalzagar, Brot und Mohrrüben, sowie auf flüssigen Nährsubstraten gleich gut.

2. Obwohl die Stereum-Arten in der Natur deutlich in Nadelholz- und Laubholzspezialisten unterschieden sind, bewachsen sie in Reinkulturen sowohl Laub- wie Nadelholz und bilden sogar auf beiden Fruchtkörper. (St. sanguinolentum auf Eichen- und Buchenholz, St. hirsutum und St. rugosum auf Fichtenholz.) Nur St. gausapatum scheint allein auf Eichenholz zu wachsen.

3. Chemische Stoffe oder bestimmte Enzyme in der Rinden- und Kambialschicht scheinen keine Rolle zu spielen, da alle Stereum-Arten in den verschiedenen Holzextrakten wuchsen. Nur St. gausapatum bildete wieder eine Ausnahme, indem es nur in Eichenholzextrakt wuchs.

4. Harz hindert die Laubholzspezialisten nicht am Eindringen in Nadelholz.

5. Eiweißstoffe und Eisengehalt sind ohne Einfluß.

6. Eiche-Kernholz hat eine besondere Resistenz gegen Pilzbefall. Buche-Kernholz bietet keinen besonderen Widerstand. Fichte-Kernholz wird von St. sanguinolentum schwerer angegriffen.

7. Höherer Gerbstoffgehalt scheint nicht die Ursache hiervon zu sein. Gerbsäure wird von den Stereum-Arten völlig zersetzt.

Im Prinzip können die Stereum-Arten alle Holzarten, Nadel- und Laubholz, angreifen. Nur durch besondere Stoffe, wie sie im Eichenkernholz vorhanden zu sein scheinen, kann ihr Wachstum stärker behindert werden. Wenn diese Pilze in der Natur trotzdem meist Spezialisten sind, so liegt dies an dem langsameren Wachstum auf anderen Holzarten und an der Konkurrenz dort schneller wachsender, anderer Pilze.

5. Die Zersetzung des Holzes.

Nach Lehmann und Scheible haben alle Pilze einen für das Wachstum optimalen Wasseranspruch. Sie haben auch St. purpureum untersucht und geben hier einen Wassergehalt von 45—50% als optimal an.

Bavendamm hat im Gegensatz zu Münch festgestellt, daß bei den holzzerstörenden Pilzen, wobei er unter anderen auch St. rugosum, St. purpureum, St. hirsutum und St. frustulosum untersucht hat, erst nach einer Sauerstoffverminderung von weniger als 100 mm Quecksilberdruck eine Hemmung des Wachstums eintritt, die zuerst bei ausgesprochenen Saprophyten wie Merulius und Coniophora bemerkbar wird. Am widerstandsfähigsten erwiesen sich dabei die parasitischen Kernholzpilze, wie St. frustulosum, die zum Teil noch bei ca. 30 mm Quecksilberdruck wachsen. Alle holzzerstörenden Pilze können sogar eine Zeitlang bei völligem Sauerstoffentzug wachsen, wobei wieder die Parasiten am widerstandsfähigsten sind. Alle von ihm untersuchten Stereum-Arten bewiesen sich als mehr zäh, am zähesten der Kernholzpilz St. frustulosum, der noch nach 10 Wochen keine Schädigung aufweist. Bavendamm sagt, daß also nur bei den ausgesprochenen Saprophyten Merulius und Coniophora die in der Literatur für alle Holzzerstörer gebrauchte Bezeichnung „sehr sauerstoffbedürftig“ stimme. Bavendamm kommt dann zusammenfassend zu der Ansicht, daß nicht, wie in der Literatur angegeben wird, lediglich der Sauerstoffgehalt in den Geweben ausschlaggebend dafür ist, ob ein Baum von den holzzerstörenden Pilzen befallen wird oder nicht, sondern daß dabei mehrere Faktoren von Bedeutung sind. Diese Ansicht muß ich nach meinen Untersuchungen bestätigen. Wie man aus beiliegender Tabelle sieht, nahm ich Holz von verschiedenstem Wassergehalt von etwa 28—96%. In jedem Falle wuchsen die verschiedenen Stereum-Arten. Auch die Feststellung von Lehmann und Scheible, daß der optimale Wasseranspruch von St. purpureum bei 45—50% liegt, scheint sich nach der Tabelle auch für die anderen Stereum-Arten zu bestätigen. Jedenfalls liegt ungefähr bei einem Wassergehalt von 45% die größte Wuchsintensität, wie man am besten am Substanzverlustprozent feststellen kann. Interessant ist vielleicht, daß dieses Optimum nahe am Fasersättigungspunkt des Holzes liegt.

März 1931.

Bezeichnung	Holzgewicht absolut trocken g	Holzgewicht angefeuchtet g	Wassergehalt g	Wassergehalt %
St. purp. auf Buche-Splintholz	7,91	11,11	3,20	40,45
St. purp. auf Buche-Splint- und Kernholz	7,50	12,80	5,30	70,7
St. rug. auf Buche-Splintholz	9,77	12,49	2,72	27,83
St. rug. auf Buche-Kernholz	10,66	15,26	4,60	43,15
St. rug. auf Buche-Splint- und Kernholz	7,40	12,86	5,46	73,8
St. hirs. auf Buche-Splint- und Kernholz	8,48	11,96	3,48	41,1
St. hirs. auf Eiche-Splint- u. Kernholz	9,80	13,32	3,52	35,93
St. hirs. auf Eiche-Kernholz	10,99	14,67	3,68	33,5
St. gaus. auf Eiche-Splintholz	7,41	11,42	4,01	54,1
St. gaus. auf Eiche-Splintholz	5,56	8,50	2,94	52,85
St. sang. auf Fichte-Splint- und Kernholz	8,65	16,94	8,29	95,8
St. sang. auf Fichte-Splintholz	9,52	12,74	3,22	33,81

Mai 1932. 14 Monate später.

Bezeichnung	Holzgewicht absol. trocken	Holzgewicht ungetrocknet	Wassergehalt		Substanzverlust	
	g	g	g	%	g	%
St. purp. auf Buche-Splintholz	6,70	8,48	1,78	26,57	1,21	15,21
St. purp. auf Buche-Splint- und Kernholz	6,83	9,25	2,42	35,43	0,67	8,93
St. rug. auf Buche-Splintholz	6,82	8,64	1,82	26,29	2,95	30,19
St. rug. auf Buche-Kernholz	7,48	10,49	3,01	40,24	3,18	29,83
St. rug. auf Buche-Splint- und Kernholz	5,33	8,60	3,27	61,35	2,07	27,97
St. hirs. auf Buche-Splint- und Kernholz	4,30	8,38	4,08	94,88	4,18	49,29
St. hirs. auf Eiche-Splint- und Kernholz	6,20	10,15	3,95	63,71	3,60	36,73
St. hirs. auf Eiche-Kernholz	8,10	10,92	2,82	34,81	2,89	13,77
St. gaus. auf Eiche-Splintholz	4,71	7,61	2,90	61,57	2,70	36,44
St. gaus. auf Eiche-Splintholz	3,73	5,51	1,78	47,72	1,83	27,30
St. sang. auf Fichte-Splint- und Kernholz	6,28	12,78	6,50	103,50	2,37	27,40
St. sang. auf Fichte-Splintholz	5,37	7,94	2,57	47,86	4,15	43,59

Nach dem Substanzverlustprozent kann man folgende abfallende Reihe aufstellen: St. hirsutum, St. gausapatum, St. rugosum, St. sanguinolentum, St. purpureum.

Dies entspricht gut dem auch sonst allgemein gewonnenen Eindruck der Wuchs- und Zersetzungsintensität. Der große Unterschied des Substanzverlustprozentes von St. hirsutum bei Eichenholz mit Splint und reinem Eiche-Kernholz, 37% gegenüber 14%, bestätigt die im 4. Abschnitt gemachte Erfahrung der größeren Resistenz des Eichenkernholzes gegenüber holzzerstörenden Pilzen. Betrachtet man die Wassergehaltsprozente am Anfang und nach 14 Mon., so kann man die Feststellung machen, daß der Wassergehalt sich in vielen Fällen vergrößert hat. Dies möchte ich darauf zurückführen, daß bei der Aufspaltung der Kohlehydrate Wasser frei geworden ist. In den übrigen Fällen scheint dies Wasser verdunstet zu sein.

Nach der Betrachtung der Intensität und des optimalen Wassergehaltes folgt jetzt die Art der Holzzersetzung.

Allgemein konnte ich beobachten, daß die Pilzhyphen von der Infektionsstelle aus radial langsam in den Markstrahlen vordringen und sich von diesen aus nach oben und unten rasch verbreiten. Der Infektionsbereich ist meist nach oben hin größer als nach unten. Dabei kann man verschiedene Zonen unterscheiden, die vielleicht mit dem periodischen Wachstum der Pilze zusammenhängen. Oft entstehen helle Streifen im Holz, wie sie als besonders charakteristisch für St. hirsutum als sog. weißpfeifiges Holz beschrieben sind. Schließlich werden die Zellwände völlig aufgelöst und man kann das Holz zwischen den Fingern zerreiben.

Nach allgemeiner Ansicht, so von Robert Hartig, Tuzson,

Bavendamm, Liese, Freemann, Spaulding, erregen die Stereum-Arten eine sehr intensive Weißfäule, indem sie das Lignin zersetzen. Im letzten Zersetzungsstadium muß aber auch die Zellulose sehr energisch angegriffen werden. Bei der Untersuchung von völlig zermürbtem Holz aus meinen Kulturen und auch von den von mir geimpften Bäumen konnte ich feststellen, daß Phlorogluzin-Salzsäure lebhaft rot und Anilinsulfat dunkelgelb färbte, während mit Chlorzinkjod-Lösung kein Blauwerden folgte.

Weniger zersetztes, noch ziemlich festes Holz dagegen wurde auch blau gefärbt. Außer den Holzstoffen können die Stereum-Arten auch Zucker, Stärke und Pektine auflösen und als Kohlehydratquelle benutzen. Gerbsäure wird ebenfalls zersetzt. Dies zeigen meine Wachstumsversuche auf den verschiedensten Nährsubstraten im vorigen Kapitel deutlich.

Um nun die Möglichkeit der Zellulosezersetzung durch die Stereum-Arten, auf die die Farbreaktionen hinwiesen, zu beweisen, impfte ich Pilzmyzel auf Hagemsche Nährlösung, wobei ich jedoch als einzige Kohlehydratquelle statt Glukose reine Zellulose hinzugab, einmal in Form von Cellophan, ein andermal von Filtrierpapier.

Die Stereum-Arten entwickelten sich hierauf völlig normal. Sie zeigten ein recht gutes Wachstum und griffen Cellophan und Zellulose an. Das Cellophan wurde von St. hirsutum und St. gausapatum sogar stellenweise ganz aufgelöst. Die Zersetzung des Filtrierpapiers machte sich durch Verfilzung der Fasern bemerkbar.

St. hirsutum bildete große, gelbe Zonen im Papier, die man auch etwas geringer bei St. rugosum, St. gausapatum und St. sanguinolentum sah. Nur bei St. purpureum fehlte die Verfärbung. Das äußere Bild der Intensität der Zersetzung und des Wachstums ergab dasselbe Bild, wie die abfallende Reihe der nach dem Substanzverlustprozent der Holzkulturen geordneten Stereum-Arten.

Es steht hiermit also fest, daß die Stereum-Arten reine Zellulose angreifen und als alleinige Kohlehydratquelle benutzen können.

6. Über die Schädlichkeit und die Frage des Parasitismus.

Krebsbildung.

Zuerst hat Potter (On a canker of the oak. Repr. Trans. of the Engl. Arb. Soc. 1901/02.) eine Krebsbildung an Quercus robur an feuchten und schattigen Plätzen Nord-Englands beschrieben und eine Stereum-Art als deren Ursache festgestellt. Potter beschreibt den Pilz als anliegend, lederartig, fahl graubraun; häufig blasser. Die Basidien sind fadenförmig, an der Spitze etwas angeschwollen und haben bis 4 Sterigmen, mit elliptischen, farblosen Sporen von 3—4 : 8½ μ Größe. Diesen Pilz hält Potter für eine neue Art und schlägt für ihn den Namen Stereum quercinum Potter vor. Die Erkrankung wird folgendermaßen geschildert:

Die Anfänge der natürlichen Krebsstellen liegen an der Basis abgestorbener Zweige. Es scheint mithin, daß der Pilz zuerst saprophytisch auf abgestorbenem Holze vegetiert und erst später lebendes Gewebe angreift. Die Infektion zeigt sich zuerst durch eine Braunfärbung der Markstrahlen. Die fortschreitende Zersetzung des Kambiums bedingt die Bildung unvollständiger Holzringe, so daß alljährlich sich vergrößernde, klaffende Wunden entstehen. Das immer wiederholte Bestreben des Baumes, die

Wunde zu schließen, hat starke seitliche Anschwellungen des Stammes zur Folge.

Die parasitäre Natur des Pilzes gelang es experimentell dadurch zu beweisen, daß durch Impfungen bei Eichensämlingen Krebswunden hervorgerufen wurden.

Weiterhin hat Liese (Eichenkrebserreger Stereum rugosum P. Z. f. F. u. J. 1930) maulförmige Krebsbildung mit zahlreichen Fruchtkörpern von St. rugosum am Grunde von Eichen in einem Privatwald bei Königswusterhausen bei Berlin geschildert. Die Infektion soll an der Schnittfläche eines tiefen Astes erfolgt sein. Liese betont daher die Gefahr von Wunden am Erdboden, da die Feuchtigkeit am Boden das Pilzwachstum begünstigt. Nach seiner Ansicht ist St. quercus Potter gleich St. rugosum. Liese erwähnt dann, daß auch Möller und Münch Eichenkrebs beobachtet hätten.



Abb. 26. Krebsstelle mit dicken Wülsten an beiden Seiten und zahlreichen Fruchtkörpern von St. rugosum. Man sieht deutlich den Aststummel in der Mitte.

Übrigens hat auch Eddelbüttel (Grundlagen einer Pilzflora des östl. Weserberglandes. Inaug. Diss. Göttingen 1911) krebsartige Wunden, ähnlich dem Lärchenkrebs, mit Fruchtkörpern von St. rugosum an einer jungen Eiche und an einem Apfelbaum beschrieben.

Ich selbst habe Eichenkrebs verschiedentlich beobachten können. Vereinzelt fand ich ihn in der Oberförsterei Hardehausen (Kreis Warburg, Reg.-Bez. Minden), sehr häufig in der Oberförsterei Glindfeld (Kreis Brilon, Reg.-Bez. Arnsberg) und im übrigen Sauerland. Krebsbildungen sah ich sowohl an Quercus sessiliflora und pedunculata, wie auch an Quercus rubra. Die Krebseichen standen immer in Bachtälern oder feuchten Mulden und nassen Schlenken. Ich vermute daher, daß hohe Luft- und Bodenfeuchtigkeit die Pilzinfektion und Krebsbildung begünstigen.

Krebsbeulen konnte man an Eichen fast jeder Stärke, meistens jedoch von 6—25 cm Brusthöhen-Durchmesser finden. Die Höhe der Stellen war auch sehr verschieden, von 20 cm bis 8 m über dem Erdboden. Am häufigsten jedoch waren die Beulen am Stamm in einer Höhe von 1,50—2 m zu finden. Meist sah ich nur eine Krebsstelle, doch fand ich auch Bäume mit 2—4 Beulen an verschiedenen Seiten. Niemals konnte ich Krebs an Zweigen oder Ästen beobachten. Es handelte sich keineswegs nur um unterdrückte, sondern auch um an Wegen völlig freistehende Eichen, die ein besonders kräftiges Wachstum hatten.

Die Krebsstellen bilden eine flache Mulde, die von zahlreichen Fruchtkörpern von St. rugosum bedeckt ist. Diese wird links und rechts von je einem dicken, hervorragenden Wulst eingefaßt. In der Mitte dieser Mulde, die immer berindet ist, ist stets ein fauler Aststummel oder doch wenigstens noch die Astansatzstelle zu finden. Alle diese Tatsachen lassen es als ausgeschlossen erscheinen, daß der Krebs primär durch das Schälen des Wildes oder durch Fällbeschädigungen entstanden ist, während der Befall durch St. rugosum nur sekundär ist. Vielmehr kann man annehmen, daß die erste Infektion an dem trockenen Ast erfolgte, durch den dann der Pilz in den Stamm eindrang. Ein Quer- und Längsschnitt durch eine Krebsstelle bestätigt diese Ansicht.

Ich machte diese Sägeschnitte durch die Mitte der Beulen, direkt an dem Aststummel vorbei. Auf der Ansicht vom Querschnitt sieht man deutlich die weißfaule Zone, die vom Aststummel in der Mitte aus sich unter der Rinde nach beiden Seiten verbreitert und auch zum Kern vordringt, wie die weißen Stellen zeigen. Der Baum bildete um die weißfaule Zone eine dunkle Schutzholzzone, die noch dunkler als der Kern ist. Dadurch scheint ein weiteres Vordringen des Pilzes verhindert zu werden. Der eigentliche Kampf zwischen Pilz und Baum setzt sich daher am Rande fort. Jahr für Jahr wird an der Krebsseite des Stammes die Fortsetzung der Jahrringbildung verhindert, während der Baum vergebens versucht, den Eindringling zu überwallen. So entsteht die flache Mulde mit dem Wulstrand.

Der Längsschnitt zeigt ein ähnliches Bild vom Vordringen des Pilzes nach oben und unten. Nur unterbleibt oberhalb und unterhalb die Wulstbildung.

Meine später beschriebenen Impfungen an lebenden Eichen lassen zwar keine Krebsbildungen erkennen, da der Angriff des Pilzes erst ein Jahr alt war, aber sie zeigen, daß St. rugosum zur Infektion befähigt ist. Zusammenfassend möchte ich also sagen, daß der Eichenkrebs offenbar nur durch St. rugosum hervorgerufen wird.

Auch ich bin der Ansicht, daß St. quercinum Potter mit St. rugosum identisch ist. Die von Potter gegebene Beschreibung der Krankheit und des Pilzes sprechen dafür.

St. rugosum ist wohl hauptsächlich ein Saprophyt. Der Pilz muß zuerst eine Wunde oder meistens einen abgestorbenen Ast als Möglichkeit zum Niederlassen haben und aus seinen Sporen ein kräftiges Myzel bilden. Dieses ist dann fähig, in die Eiche einzudringen, wenn diese sich in einem Zustand latenten Lebens befindet. Der Eichenkrebs ist also ähnlich dem Lärchenkrebs, nur daß die Angriffsfähigkeit von St. rugosum wohl etwas schwächer ist, als die von Peziza Willkommii.

Milchglanz.

St. purpureum soll an Obstbäumen eine sonderbare Erkrankung, den sog. Milchglanz der Blätter oder die sog. Silberblätter, hervorrufen, obwohl in den erkrankten Blättern niemals Pilzhyphen gefunden wurden. Nach Ansicht von Güssow, Brooks, Percival und Pickering entsteht die Krankheit dadurch, daß der im Innern des Holzes steckende Pilz giftige Stoffe in den Saft der Bäume absondert, die in die Blätter gelangen und dort den Milchglanz hervorrufen. Nach besonderen Untersuchungen

von Brooks und Brenchly gelang es durch Injektion eines Extraktes aus zerriebener Pilzmasse oder einer Nährlösung, in der der Pilz gezogen worden war, an Pflaumenbäumen eine Erkrankung der Blätter hervorzurufen. Die Blattspitzen werden braun und Teile der Blattspreite sterben ab und fallen aus, so daß die Blätter durchlöchert werden und die sog. Silberblätter entstehen.

Nach neueren Untersuchungen von Brooks und Brenchly sind in den Extrakten und Nährlösungen zwei verschieden wirksame Stoffe vorhanden. Ein Stoff a ruft die Bräunung der Blätter hervor. Er verträgt 2 Min. langes Kochen und diffundiert leicht durch eine Kollodiumhaut. Stoff b verursacht die Silberblätter. Durch 2 Min. langes Kochen wird in der Regel seine Wirksamkeit aufgehoben oder wenigstens sehr geschwächt. Durch eine Kollodiumhaut diffundiert er anscheinend schwerer als Stoff a. Eine völlige Trennung der beiden Stoffe wurde nicht erreicht. Keiner von ihnen scheint ein Enzym zu sein.

Pilàt meint aber, daß diese Stoffe doch von enzymatischer Beschaffenheit sein müßten, welche selbst keine pathogenen Wirkungen haben, da sie auf dem Wege zu den Blättern keine Veränderungen hervorrufen. Erst in den Blättern entstehen pathogene Wirkungen bei Berührung mit den Aktivatoren oder Koenzymen, die in den Blättern vorkommen oder entstehen.

Nach Ansicht von Smolàk, Blackmore und Petri wird aber die Krankheit nicht nur in jedem Falle durch St. purpureum hervorgerufen.

Hierzu möchte ich bemerken, daß es mir nicht gelungen ist, durch Impfungen von Myzel von St. purpureum aus Holzkulturen an Pirus- und Prunus-Arten Erkrankungen der Blätter hervorzurufen. Doch war vielleicht die Zeit der Einwirkung zu kurz, da die Impfungen erst 12 Monate alt waren.

Parasitismus.

Die Ansichten in der Literatur über den Parasitismus oder Saprophytismus der Stereum-Arten sind nicht ganz einheitlich. Doch wird im allgemeinen geglaubt, daß diese Pilze meist Saprophyten und nur fakultative Parasiten seien. Auch nach meinen Beobachtungen in der freien Natur greifen die Stereum-Arten meist von einem trockenen Ast aus lebendes Gewebe an. Doch häufig konnte ich auch direkte Wundinfektionen an Schälstellen und Holzrückschäden an Stamm und Wurzel beobachten. St. purpureum ist bei uns und in England (Thaysen und Bunker) als Wundparasit beobachtet worden. Von St. sanguinolentum wird von Spaulding aus Nordamerika berichtet, daß es ein häufiger Feind lebender Balsamtannen (Abies balsamea) sei. All diese Berichte fußen auf Beobachtungen in der freien Natur. Nur Münch hat durch erfolgreiche Impfung von St. purpureum an lebenden Pappelzweigen den Parasitismus dieses Pilzes experimentell bewiesen.

Um hier volle Klarheit zu schaffen, habe ich ebenfalls Impfungen an lebenden, aber noch stehenden Stämmen und Bäumchen gemacht.

Am 18. April 1931 wurden im Distrikt 83 der Oberförsterei Kattenbühl bei Hann.-Münden von Reinkulturen auf Brot in Erlenmeyer-Kolben auf lebende, normal entwickelte, etwa 25 jährige Eichenstämme St. rugosum und St. gausapatum geimpft. 5—10 cm über dem Boden wurde die Rinde mit Alkohol abgewaschen und mit einem in Alkohol ge-

tauchten Messer ein etwa 1 cm breiter und 2 cm langer Schnitt bis ins Holz gemacht. In diesen Einschnitt kam ein Stück Brot mit Pilzmyzel. Dann wurde sterile Watte mit Bast darübergebunden. An jedem Stamm sind außerdem ½ m darüber zur Kontrolle gleichbehandelte Einschnitte ohne Impfung mit Pilzmyzel gemacht worden. Auch einige Buchen eines etwa 15 jährigen danebenliegenden Verjüngungshorstes wurden in gleicher Weise geimpft.

Am 10. Juni 1932, also 14 Mon. später, wurden die Bäume gefällt und längs durchschnitten.

Man konnte jetzt sehen, daß es St. rugosum und St. gausapatum bei 6 Impfungen nur je einmal auf Eiche gelungen war, tiefer einzudringen und eine deutliche Weißfäulezone zu bilden. Die übrigen Impfstellen waren von einer starken, rotbraunen Schutzzone umgeben, die etwa 11 cm stark war und das tiefere Eindringen verhindert hatte. Bei den Kontrollstellen war stets nur eine schwache, 2—3 mm breite Schutzzone gebildet worden. Die Weißfäulezonen waren gelblich und mürbe, während die Schutzzonen eher fester als das normale Holz waren. In beiden Fällen aber waren die Einschnittstellen nicht mit Kallusgewebe zugewachsen, wie dies bei den Kontrollstellen der Fall war. Unter dem Mikroskop zeigte sich nun, daß die Zellen der Weißfäulezonen dicht von Pilzhyphen angefüllt waren, während sonst in den Schutzzonen nur 1 bis 2 Pilzhyphen zu sehen waren.

Ich impfte Teile der Weißfäulezonen auf Biomalz-Agar in Röhrchen. Jedesmal entwickelte sich schon nach 2 Tagen üppiges Myzel, das ich nach dem im Bestimmungsschlüssel im 1. Abschnitt angegebenen Merkmalen einwandfrei als Myzel von St. rugosum oder St. gausapatum bestimmen konnte. Auch aus den Schutzzonen impfte ich Teile auf Biomalzagar. Hier entwickelte sich jedoch erst nach 5 Tagen nur wenig Myzel, das durch Bakterien überwuchert wurde.

Bei der Beurteilung dieser Impfversuche muß man berücksichtigen, daß sie am 18. April, also in der Zeit des Hauptsaftanstieges, gemacht wurden. Der Pilz, dessen Hauptwachstumszeit im Herbst und Winteranfang liegt, fand also die für ihn ungünstigsten Infektionsbedingungen. Man kann wohl mit einiger Sicherheit annehmen, daß bei Impfungen etwa im Monat November fast in allen Fällen ein tieferes Eindringen stattgefunden hätte. Ich möchte daher den Schluß ziehen, daß St. rugosum und St. gausapatum im allgemeinen zur Wundinfektion gesunden Holzes, manchmal sogar unter ungünstigen Verhältnissen während der Hauptwachstumszeit desselben, fähig sind. Auf dieselbe Weise impfte ich am 13. Juni 1931 St. purpureum, St. hirsutum, St. rugosum und St. sanguinolentum auf verschiedene Bäume im großen Botanischen Garten. Nur nahm ich diesmal kein Myzel von Brotkultur, sondern kleine Holzstückchen mit Myzel aus Kulturen in Erlenmeyer-Kolben. Die Kulturen waren vom 13. Februar 1931. St. purpureum impfte ich auf Pirus chinensis zweimal, auf Pirus spec. einmal und auf Prunus domestica einmal. St. hirsutum zweimal auf Quercus falcata und einmal auf Quercus rubra.

St. rugosum impfte ich je einmal auf Rotbuche und Prunus domestica, St. sanguinolentum zweimal auf Picea excelsa und dreimal auf Pinus banksiana. Es handelte sich in allen Fällen um Bäumchen von Finger- bis Armdicke.

Am 20. Juni 1932, also 12 Monate später, ergab sich folgendes Bild: Im Längsschnitt sah man, daß St. purpureum in Prunus domestica in einem armstarken Ast bis in den Kern gedrungen war in Form eines rötlichen Kreissektors. Dagegen hatte sich Pirus chinensis erfolgreich gegen den Angriff des Pilzes gewehrt, den Einschnitt durch Kallusgewebe völlig geschlossen und eine Schutzzone gebildet. St. hirsutum war sowohl in Quercus rubra als auch in Quercus falcata erfolgreich eingedrungen und hatte eine deutliche kleine Weißfäulezone gebildet. St. rugosum war sowohl in Rotbuche als auch in Prunus domestica eingedrungen unter Bildung einer, wenn auch nur kleinen Weißfäulezone. Anders war das Bild bei St. sanguinolentum. Picea excelsa sowohl wie Pinus banksiana hatten sich durch starken Harzerguß erfolgreich gegen das Eindringen des Pilzes gewehrt.

Das Harz war sogar tief in das darauf geimpfte Holzstück eingedrungen. Nach meinen Untersuchungen im 3. Abschnitt kann das Harz wohl überwachsen und eine Zeitlang durchwachsen werden. Der starke Druck des herausdrängenden Harzes am lebenden Baum aber drückt die Pilzhyphen schneller nach außen. Außerdem schließt das Harz luftdicht ab und füllt die Holzzellen ganz aus, so daß keine Luft mehr in ihnen ist.

Die mikroskopischen Untersuchungen bestätigten dieses Bild. Durch Herausimpfen von infiziertem Holz auf Biomalzagar konnte ich jedesmal nach 2 Tagen das Wachstum des Myzels der betreffenden Pilze feststellen. Von den Überimpfungen aus den Stellen, wo der Angriff des Pilzes abgewehrt war, entwickelte sich dagegen kein Myzel, so daß auch hierdurch das erste Bild bestätigt wird.

7. Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Die chemischen Untersuchungen ergaben, daß entgegen der Ansicht von Kindermann in den Hyphen und Fruchtkörpern der Stereum-Arten keine Gerbsäure vorhanden ist. Dagegen fand ich in den Fruchtkörpern Fette und Eiweißstoffe.

Zur Zersetzung des Substrates werden von dem Pilzmyzel Oxydasen ausgeschieden, die auch in den Fruchtkörpern und Safthyphen enthalten sind.

Das sog. Bluten scheint durch Oxydation des farblosen Saftes in den Safthyphen durch die Qxydasen zu entstehen.

2. Das Wachstum der Stereum-Arten ist auf Biomalz-Agar, Brot, Mohrrüben und auf flüssigen Nährsubstraten gleich gut. Obwohl sie in der Natur deutlich in Nadelholz und Laubholzspezialisten unterschieden sind, bewachsen sie in Reinkulturen sowohl Laub- wie Nadelholz. Nur durch ganz besondere Stoffe, wie sie im Eichenkernholz vorhanden zu sein scheinen, kann ihr Wachstum stärker behindert werden.

3. Alle Stereum-Arten haben einen optimalen Wasseranspruch von etwa 45%, wie ihn Lehmann und Scheible für St. purpureum festgestellt haben. Dieses Optimum liegt in der Nähe des Fasersättigungspunktes. Nach der Wuchskraft, ausgedrückt durch das Substanzverlustprozent, kann man folgende abfallende Reihe aufstellen: St. hirsutum, St. gausapatum, St. rugosum, St. sanguinolentum, St. purpureum.

Jedes Kohlehydrat kann zur Ernährung benutzt werden. Trotzdem die Fäule das Bild einer typischen Weißfäule zeigt, wird auch Zellulose sehr

stark angegriffen und zuletzt völlig zersetzt. Auch reine Zellulose kann als alleinige Kohlehydratquelle dienen.

4. St. rugosum bildet in feuchten Lagen an Eichen dicke Krebsbeulen. Die Infektion erfolgt von einem trockenen Ast aus. Alle Stereum-Arten sind zur Wundinfektion fähig.

III. Teil.

Literaturnachweis.

1. Systematische und beschreibende Werke.

Bourdot et Galzin, Hymenomycetes de France. Paris 1928. — Brefeld, O., Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte der Basidiomyceten. Berlin 1876. — Brinkmann, W., Die Telephoraceen Westfalens. (44. Jahresber. westf. Prov. Ver. f. Wiss. 1916.) — Burt, E. A., The Telephoraceae of North America. (Annals of the Missouri Botanical Garden. Stereum XII. Vol. 7. 1920.) — Eddelbüttel, H., Grundlagen einer Pilzflora des östlichen Weserberglandes und ihrer pflanzengeographischen Beziehungen. Inaug.-Diss. Göttingen 1911. — Hennings, P., Hymenomycetes in Engler und Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. 1897—1900. — Heß-Beck, Forstschutz. II. Bd. Funk, G., Schutz gegen Pflanzen. 1930. — Hilitzer, A., Stereum rugosum, ein übersehener Parasit der Buche. [Tschechisch mit franz. Inhaltsangabe.] Pisek 1930. — Lloyd, C. G., Mycological Notes. Cincinnati 1868—1924. — Neger, F. W., Die Krankheiten unserer Waldbäume. II. Aufl. Stuttgart 1924. — Pilat, A., Tschechoslowakische Holzpilze. Stereum. (Sbornik Ceskosl. Akad. Zem. V. Prag 1930.) — Pilat, A., Monographie der europäischen Stereaceen. (Hedwigia LXX. H. 1/2. März 1930.) — v. Tubeuf, Pflanzenkrankheiten durch kryptogame Parasiten verursacht. Berlin 1895. — Winter, Pilze I in Rabenhorst, Kryptogamenflora. Leipzig 1884. — Freemann, E. M., Minnesota plant diseases. Saint Paul, Minnesota 1905.

2. Chemische Werke.

Czapek, Friedrich, Biochemie der Pflanzen. III. Bd. Jena 1920. — Onslow, Miß Muriel Wheldale, Practical plant biochemistry. Cambridge 1929. — Oppenheimer und Kuhn, R., Lehrbuch der Enzyme. Leipzig 1927. — Rosenthaler, L., Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung. Berlin 1928. — Schwalbe-Sieber, Die chemische Betriebskontrolle in der Zellstoff- und Papier-Industrie. Berlin (J. Springer) 1931. — Tunmann, O., Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913.

3. Sonderabhandlungen.

1. Aderhold, R., Milchglanz des Steinobstes. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 5. 1895. S. 96.) — Bavendamm, W., Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Jahrg. 38. 1928. H. 9/10.) — Bavendamm, W., Neue Untersuchungen über die Lebensbedingungen holzzerstörender Pilze. Ein Beitrag zur Immunitätsfrage. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 45. 1927. Heft 6.) — Brooks, F. T., Silver-Leaf Disease. (Journ. of Agric. Science. IV. Part 2. p. 133 etc.) — Brooks, F. T., and Brenchley, G. H., Further injection experiments in relation to Stereum purpureum. (New Phytologist. Vol. 30. 1931. p. 128—135.) — Cartwright, K. St. G., and Findlay, W. P. K., The Diagnosis of decay in timber. (Empire Forestry Journ. London. Vol. 9. 1930. No. 2.) — Fischer, E., und Gäumann, E., Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena (G. Fischer) 1929. — Güssow, H. T., Der Milchglanz der Obstbäume. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 22. 1912. S. 385.) — Güssow, H. T., Report of the Dominion Botanist. (Dep. of Agric. f. Canada. 1910. p. 268.) — Güssow, H. T., Phytopathology. Vol. I. No. 6. p. 177.) — Hartig, Robert, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelbäume und der Eiche. 1878. — Hoffmann, K., Wachstumsverhältnisse einiger holzzerstörender Pilze. Diss. Königsberg 1910. (Vgl. auch Ztschr. f. Naturk. 1910. Bd. 82. S. 35—128.) — Hubert, Ernest E., The diagnosis of decay in Wood. Washington: Government printing office 1925. (Journ. of Agricult. Res. Vol. 29. No. 11. Washington, D. C., Dec. 1. 1924.) — Istvanffi, Gy., Untersuchungen über die physiologische Anatomie der Pilze mit besonderer Berücksichtigung des Leitungssystems bei den Hydnei, Thelephorei und Tomentellei. (Jahrb. f. wissensch. Botanik. 1896.) — Kinder-

mann, V., Über das sogenannte Bluten der Fruchtkörper von Stereum sanguinolentum Fries. (Österr. Bot. Ztschr. 1901). — Lehmann, K. B., und Scheible, E., Quantitative Untersuchungen über Holzzerstörung durch Pilze. (Arch. f. Hygiene. Bd. 92. 1923. S. 89—108.) — Liese, Johannes, Verhalten holzzerstörender Pilze gegenüber verschiedenen Holzarten und Giftstoffen. (Ztschr. f. Angew. Bot.) In Mahlo-Troschel, Handb. d. Holzkonservierung. 1928. Eichenkrebs, Erreger Stereum rugosum Pers. (Ztschr. f. F. u. J. 1930. S. 587.) — Munch, E., Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. (Nat. Z. f. F. u. L. 1909.) — Münch, E., Versuche über Baumkrankheiten. (Nat. Z. f. F. u. L. 1910. S. 389.) — Oehm, Gustav, Die Saftleitung bei Lentinus squamosus Fries u. L. squ. f. suffrutescens Brot. (Archiv f. Protistenk. Bd. 74. 1931. H. 1.) — Percival, J., Silver-Leaf Disease. (Journ. Linn. Soc. Bot. Vol. 35. p. 390.) — Potter, M. C., On a canker of the oak. Transact. of the Engl. Arboricult. Soc. 1901—1902. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 13. 1903. S. 301.) — Schoevers van der Lek. van Poteren. De loodglansziekte. 1920. — Smolak, J., A contribution to our knowledge of Silver-Leaf disease. (Ann. of Appl. Biol. II. p. 31. Nos. 2—3. July 1915.) — Sorauer, P., Über Milchglanz in Handb. d. Pflanzenkr. III. Aufl. Bd. I. Berlin 1886. S. 141. III. Aufl. Bd. I. Berlin 1907. S. 285—286. — Spaulding, Perley, Decay of slash of northern white pine in southern New England. U. S. A. Departement of Agricluture Washington. — Thayson, A. C., and Bunker, H. J., The microbiology of cellulose, hemicelluloses, pectins and gums. (Oxford university press. London 1927.) — Tuzson, Johann, Anatomische und mykologische Untersuchungen über den falschen Kern und die Zersetzung des Rotbuchenholzes. (Math. u. Naturw. Anz. der ungar. Akademie. Bd. 21. 1902.) — Wehmer, C., Zur Resistenz des Eichenholzes gegen Hausschwammwirkung infolge des Gerbstoffgehaltes. (Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 32. 1914.)

Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem Centraalbureau voor Schimmelcultures II — Baarn (Holland).

Von F. H. van Beyma thoe Kingma, Baarn (Holland).

Mit 6 Abbildungen im Text.

Trigonia bambusae nov. gen. nov. spec.

Das Zentralbureau erhielt aus dem Koloniaal Instituut zu Amsterdam einen Bambussproß, der an der Spitze mit zahlreichen Perithezien überdeckt war, welche den Pilz bei näherer Betrachtung in die Unterordnung der Sphaeriaceae (Pyrenomycetes) verwiesen. Weiteres Studium zeigte, daß er zur Familie der Sordarieae gehörte, indem die schwarzen Sporen eine eigentümliche, gallertartige Fortsetzung aufwiesen, welche durch eine Wand von der eigentlichen Spore abgetrennt war. Jedoch konnte der Pilz bei keiner der beschriebenen Gattungen dieser Familie untergebracht werden, da eine Gallerthülle fehlt und ebenso die typischen Anhängsel. Die jungen Askosporen sind anfangs mehr oder weniger kugelig, nach und nach findet eine Streckung in einer Richtung statt und es tritt schon die dreieckige Gestalt der reifen Sporen hervor. Das Protoplasma geht jetzt in den oberen Teil über und umgibt sich mit einer Membran, wodurch der untere Teil farblos und durchsichtig wird. Eine Ausdehnung dieses farblosen Teiles zu einem zylindrischen Stiele, wie dieses von Woronin ausführlich beschrieben wurde[1]), erfolgt hier aber nicht. Man kann in diesem Falle

[1]) Woronin, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. 1888. S. 332 ff.

denn auch nicht den Eindruck gewinnen, daß der hyaline Teil ein Anhängsel sein soll, sondern muß ihn als eine richtige Zelle betrachten, die sich aber nicht dunkel färbt. Unter Anhängsel versteht man längliche Gebilde, welche die eigentliche Gestalt der Spore unberührt lassen und zumeist im mikroskopischen Präparat nicht einmal leicht zu sehen sind. Bei der vorliegenden Art ist der hyaline Teil, wenn auch von geringeren Ausmaßen wie der dunkel gefärbte Teil, unzertrennlich mit letzterem verbunden, dazu deutlich sichtbar und von einer Wand umgeben, so daß das Ganze als eine zweizellige Spore aufgefaßt werden muß. Winter bemerkt auf S. 171 der II. Abt. von Rabenhorst zu den Anhängseln der Gattung Podospora, daß das Anhängsel 1. Ordnung, worunter er den unteren, dünneren, zylindrischen Teil der Sporen, also den Stiel versteht, eine typische Zelle repräsentiere, im Gegensatz zu den Anhängseln 2. Ordnung, welche einer eigenen Membran entbehren. Trotzdem werden die Sporen doch als einzellig aufgefaßt, weil der Stiel nicht als zur eigentlichen Spore gehörig betrachtet wird.

Unser Pilz muß denn auch in eine Gattung gebracht werden, welche neben die Gattung Delitschia zu stellen, und als einen Übergang zu dieser, mit ihren zweizelligen, dunkelgefärbten Sporen, zu betrachten ist. Daß diese Gattung, welche wir Trigonia genannt haben, auch mit einer zweiten Sondergruppe der Sphaeriaceae, nämlich mit den Chaetomiaceae, verwandt ist, könnte daraus geschlossen werden, daß die Gattung Bommerella ebenfalls Asci mit dreieckigen Sporen besitzt, welche aber eines hyalinen Teiles entbehren.

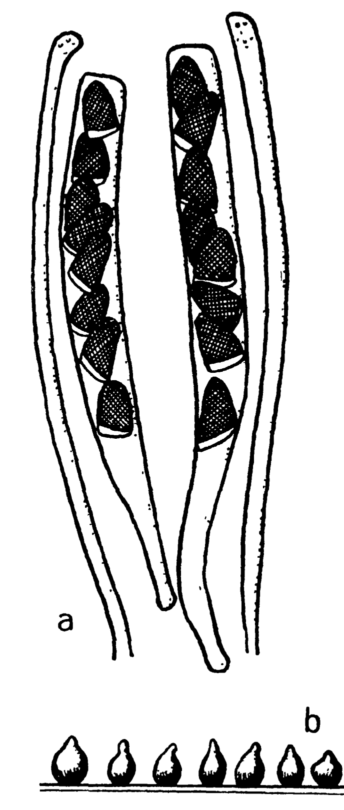


Abb. 1. Trigonia bambusae.
a Asci und Paraphysen. Vergr. 490.
b Perithezien. Vergrößert.

Die Einteilung der Sordariaceae würde sich demnach wie folgt gestalten:

A. Sporen einzellig, dunkelgefärbt, mit oder ohne Anhängsel
- a) Ohne Stroma . . . . 1 Sordaria
- b) Mit Stroma. . . . . 2 Hypocopra

B. Sporen mehrzellig, dunkelgefärbt
- a) Sporen zweizellig, davon eine Zelle hyalin . . . . 3 Trigonia
- b) Sporen zweizellig, beide Zellen dunkel . . . . . . 4 Delitschia
- c) Sporen vier- bis ∞-zellig
  - aa) Ohne Stroma . . . . 5 Sporormia
  - bb) Mit Stroma . . . . 6 Sporormiella
- d) Sporen mauerförmig geteilt . . . . 7 Pleophragmia

Die Diagnose der Gattung Trigonia lautet folgendermaßen: Perithezien halb eingesenkt, später oberflächlich, zerstreut oder herdenweise, häutig-lederartig, braunschwarz, ohne Stroma. Asci 8-sporig mit Para-

physen. Sporen zweizellig, davon eine Zelle braun, die andere hyalin, ohne Gallerthülle, ohne Anhängsel.

Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Trigonia bambusae nov. spec.

Perithezien zerstreut oder herdenweise, anfangs halb eingesenkt, später oberflächlich, nackt, breit, flaschenförmig oder birnförmig, in einer kurzen, dicken, geraden Hals verschmälert, braunschwarz, im reifen Zustande am Ostiolum oft die ejakulierten Sporen in großen Massen als eine schwarze Kruste enthaltend, 360—400 × 300 μ groß.

Asci zylindrisch, am Scheitel abgeflacht, lang gestielt, 8-sporig, 140—160 × 15 μ.

Paraphysen fadenförmig, septiert, etwas über den Schläuchen hinausragend.

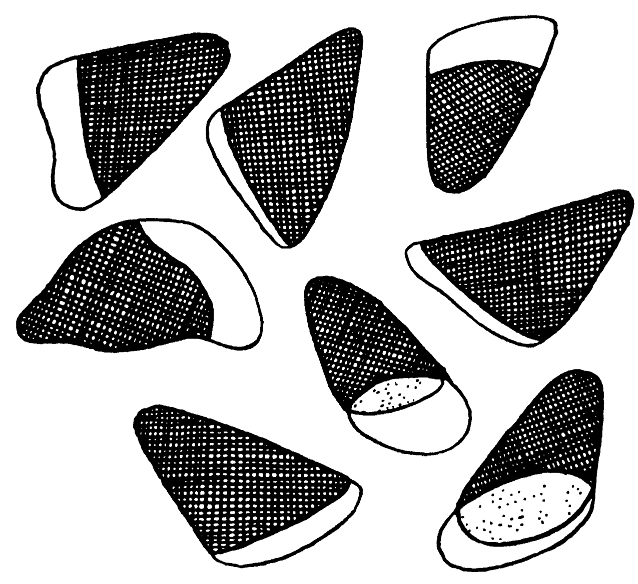


Abb. 2. Trigonia bambusae. Askosporen. Vergr. 1500.

Sporen einreihig in den Asci liegend, dreieckig, zweizellig, die obere Zelle schwarzbraun, die untere hyalin und gallertartig, ohne Anhängsel, ohne Gallerthülle, größte Länge × größte Breite: 18—21 × 12—15 μ.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale wächst vom Impfstück aus weißes, flockiges Myzel. Nach etwa 14 Tagen entstehen auf dem Agar, hauptsächlich aber am Rande der Schale, zahlreiche Perithezien. Ebenso auf Bierwürze-Agarröhrchen, welche mit einem Streifen Filtrierpapier versehen sind, sowie auch auf Haferflocken-Agar.

Hab. Auf einem Bambussproß aus Java.

Cryptomela acutispora nov. spec.

Ebenfalls von Dr. Sabet, Cairo, stammte die Kultur eines Pilzes, der in Petrischalen auf Bierwürze-Agar ein kräftiges, weißes, wolliges Myzel erzeugte, worin um das Zentrum (Impfstück) herum konzentrische Kreise von schwarzen Stellen entstanden, welche sich als Sporenlager erwiesen. Weiteres Studium zeigte, daß der Pilz zu den Melanconiaceae gehörte, und zwar zur Gattung Cryptomela Sacc. Leider ist über das Vorkommen dieses Pilzes nichts weiter bekannt. Obwohl derselbe aus der Erde isoliert wurde, dürfte er doch ursprünglich von Blättern oder Ästen irgendeiner Pflanze stammen, wie das auch mit den anderen Arten dieser Gattung der Fall ist. Die Beschreibung dieses Pilzes, der nicht mit

einer der bereits beschriebenen Arten identifiziert werden konnte, lautet folgendermaßen:

Cryptomela acutispora nov. spec.

Sporenlager in der Reinkultur auf Bierwürze-Agar in Petrischalen schwarz, glänzend, weichkrustig, in gewölbten Häufchen einem weißen, dichtwolligen Myzelpolster aufsitzend und in konzentrischen Kreisen verbreitet um das Impfstück herum auftretend, aus dichtgedrängt stehenden Sporenträgern zusammengesetzt.

Sporenträger hyalin, zuerst ein lockeres Geflecht bildend, nach der Peripherie zu dichten Sporenlagern zusammentretend, an dieser Stelle etwa 12—15 μ lang und 2—3 μ breit, die Sporen sowohl einzeln in gewissen Abständen pleurogen erzeugend wie köpfig-ährig gehäuft am Scheitel.

Sporen spindelförmig, beidendig zugespitzt, meist 7—7,3 × 2,7—3 μ, mit 2 Öltropfen, leicht gefärbt, in großen Massen schwarz.

Reinkulturen: Auf Lupinenstengel entstehen nach 14 Tagen zahlreiche schwarze Sporenlager, ohne Luftmyzel, von unregelmäßiger Gestalt, 2—3 mm im Durchmesser. Nur oben am Stengel etwas weißes Myzel.

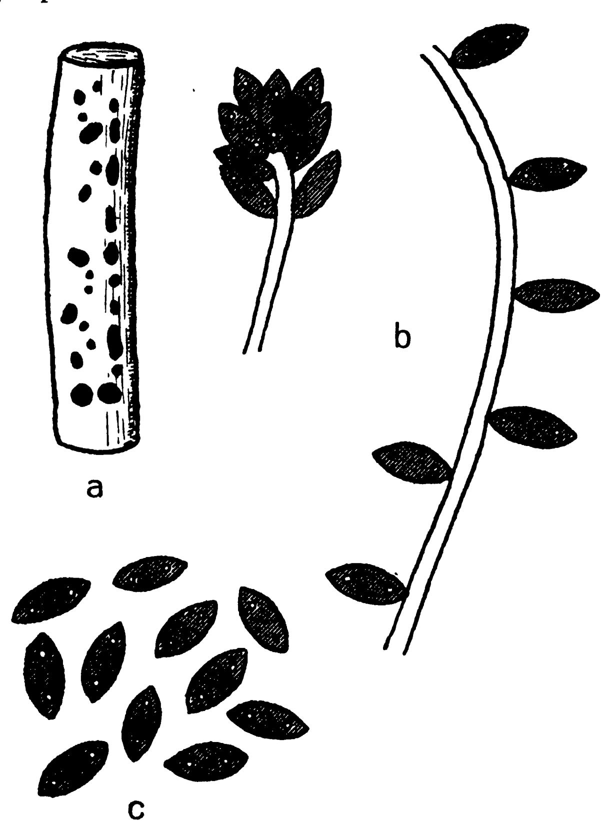


Abb. 3. Cryptomela acutispora.
a Lupinenstengel mit dem Pilze in natürlicher Größe (Reinkultur). b Sporenträger. Vergr. 1500. c Sporen. Vergr. 1500.

Hab: Aus der Erde bei Kairo (Sabet).

Cephalosporium tabacinum nov. spec.

Von Mr. Jollyman (Bristol) erhielt das Centraalbureau die Kultur eines Cephalosporiums, das aus dem Innern einer kranken Tabakpflanze stammte und dessen Beschreibung als unbekannte Art unten folgt.

Auf den verschiedenen Agar-Nährböden wächst der Pilz häutig, wie Cephalosporium acremonium, bildet aber nicht dessen rote Farbe. Von der farblosen Haut erheben sich nach allen Seiten hin aus-

strahlende, farblose Hyphenbündel, von denen die konidientragenden Ästchen ausgehen. Die Hyphen haben undeutliche Querwände und enthalten zahlreiche Tröpfchen, sind 1,3—2,7 μ breit und weisen mitunter terminale oder interkalare Blasen auf, welche einen Durchmesser von etwa 8 μ haben. Die Ästchen sind nicht zahlreich und kommen sehr unregelmäßig vor, manchmal mehrere in kurzen Abständen, manche vereinzelt. Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Cephalosporium tabacinum nov. spec.

Sterile Hyphen kriechend, eine farblose bis blaßrötliche Haut bildend, mit undeutlichen Querwänden und vielen Tröpfchen, 1,3—2,7 μ breit.

Fertile Hyphen aufsteigend, meist zu Bündeln vereint nach allen Seiten ausstrahlend, ebenfalls mit undeutlichen Querwänden und Tröpfchen, 1,3—2,7 μ breit, bis 4 mm lang.

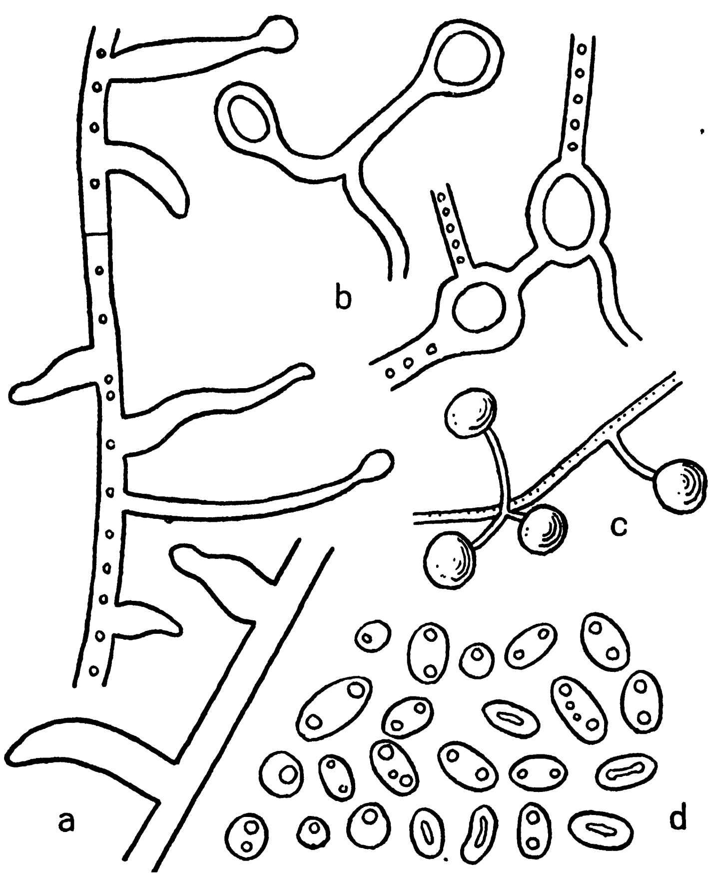


Abb. 4. Cephalosporium tabacinum.
a Konidienträger Vergr. 1500. b Blasenförmige Auftreibungen im Myzel. Vergr. 1500. c Köpfchen. Vergr. 490. d Konidien. Vergr. 1500.

Konidienträger nicht zahlreich, unregelmäßig von den fertilen Hyphen abgehend, von verschiedener Länge und Gestalt, sowohl kurz und breit wie lang und dünn, oder auch flaschenförmig, öfters gebogen, 16—36 × 2—3,3 μ, unseptiert, nach dem Scheitel sich verjüngend.

Konidien zahlreich, hyalin, von unregelmäßiger Gestalt, ellipsoidisch bis fast kugelig, meist mit zwei Öltröpfchen, mitunter auch mit einem oder mehreren, oder mit undeutlichem Inhalt, 4—8 × 2,7—3,7 μ, meist 5,3 × 3,3 μ, in feuchter Umgebung zu Köpfchen von 10—15 μ Durchmesser vereint.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar bildet sich eine farblose bis schwach rötliche Haut, von der sich bis 4 mm lange, farblose

Hyphenbündel erheben. Auf Kirsch-Agar sind die Kolonien etwas weniger häutig und etwas mehr wollig, indem die Hyphenbündel kürzer sind und dichter zusammenstehen. Farbe rötlich weiß. Auf Reis ist das Wachstum wollig, weiß. Der Reis nimmt eine orangerote Farbe an (Code des Couleurs 78 C—78 D—91).

Hab. Aus dem Innern einer kranken Tabakpflanze (Jollyman).

Chloridium crateriforme nov. spec.

Dieser Pilz wurde im hiesigen Laboratorium als Verunreinigung in einer Petri-Schale gefunden. Er bestand aus zahlreichen kleinen, etwa halbkugeligen, wolligen Kolonien von grüngrauer Farbe mit schmalem, dunkelgrünem Rande. Unter dem Mikroskop zeigten die meist zu Bündeln vereinten fertilen Hyphen zahlreiche aufrechtstehenden Konidienträger, wie bei der Gattung Cephalosporium, und massenhafte fast hyaline Konidien. Die nähere Untersuchung ergab, daß der Pilz in die Gattung Chloridium (Untergattung Euchloridium) zu stellen ist. Die Konidienträger zeigen sich nämlich im oberen Teil hin und her gebogen, wobei an den kleinen hervorragenden Stellen die Konidien sitzen. Das kommt daher, daß die Konidien zwar an der Spitze gebildet werden, durch den wachsenden Scheitel aber beiseite gedrängt werden. Dieses monopodiale Wachstum der Konidien ist typisch sowohl für Chloridium wie für Haplaria. Da unser Pilz auf Grund seiner dunklen Farbe zu den Dematiaceae gehört, kommt nur erstgenannte Gattung in Frage. Der Name des Pilzes ist abgeleitet von der merkwürdigen Gestalt der Kolonien auf Agar-Nährböden. Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

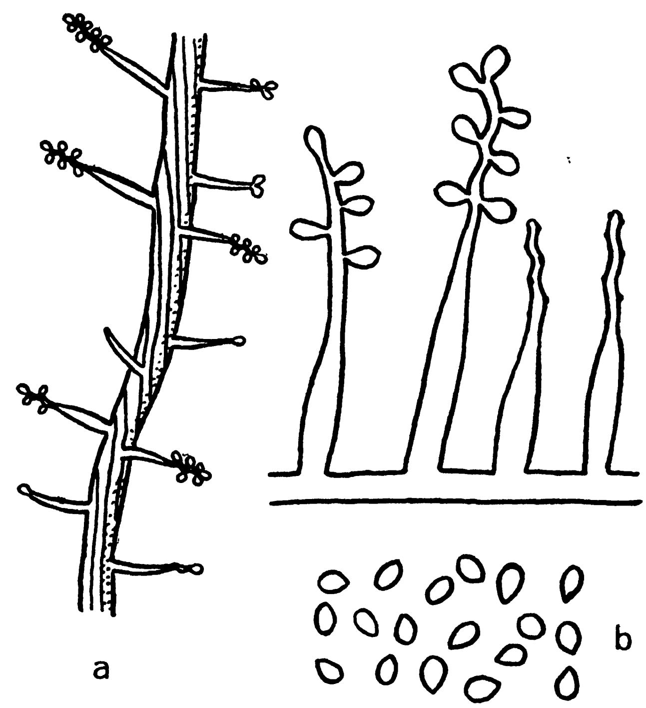


Abb. 5. Cloridium crateriforme.
a Habitus des Pilzes. Vergr. 490.
b Konidienträger und Konidien. Vergr. 1500.

Chloridium crateriforme nov. spec.

Fertile Hyphen als dichter grüngrauer Filz die Kolonien überziehend, einzeln unter dem Mikroskop hellgrünbraun gefärbt.

Konidienträger zahlreich, von den fertilen Hyphen allseitig ausgehend, hellgrünbraun gefärbt, 24—34 μ lang, an der Basis 2—2,7 μ breit, im ersten Drittel oder in der ersten Hälfte gerade und sich allmählig verjüngend, von da an leicht hin und her gebogen bei fast gleichbleibendem Durchmesser, an jeder Hervorragung sowie auch terminal eine Konidie bildend.

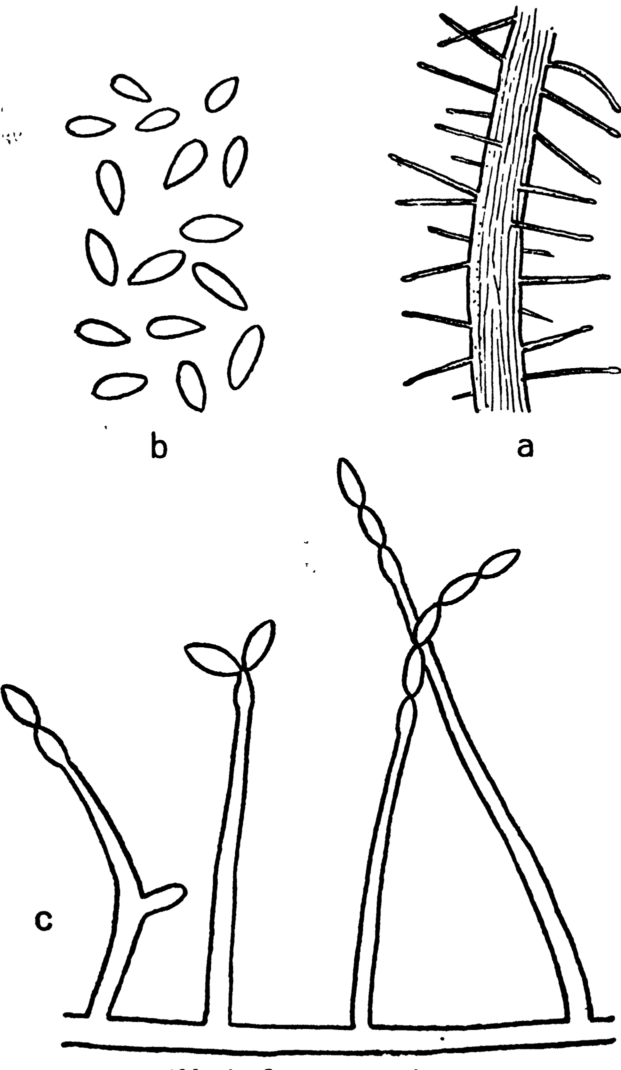


Abb. 6. Oospora egyptiaca.
a Habitus des Pilzes. Vergr. 490. b Konidien. Vergr. 1500. c Konidienträger. Vergr. 1500.

Konidien massenhaft, fast hyalin, eiförmig, einerseits spitz zulaufend, 2,7—3,3 × 2—2,3 μ, leicht abfallend.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in einer Petri-Schale entstehen nach 8 Tagen kleine runde, halbkugelige, filzige Kolonien (Farbe 371), welche etwas in den Agar hineinwachsen, mit schmalem, farblosem Saum. Unterseite hohl, 331—326.

Nach etwa 10 Tagen sind die Kolonien oben etwas eingesunken, so daß untiefe Krater entstehen. Bei weiterem Wachstum, nach etwa 14 Tagen, sind 1½ cm große, etwa 5 mm hohe, hügelartige Kolonien entstanden, von einem filzigen, grüngrauen Myzel überzogen, im Zentrum mit einer kraterförmigen Vertiefung. Die steil abfallenden Wände zeigen radiäre Falten und sind durch eine feine Zonenbildung quergestreift. Die Unterseite der Kolonien ist dunkelgraublau, das Zentrum ist hohl und zeigt radiäre Risse.

Hab. Als Verunreinigung im hiesigen Laboratorium.

Oospora egyptiaca nov. spec.

Von Dr. Sabet erhielt das Centralbureau aus Cairo eine Oospora, deren Beschreibung in der Literatur nicht aufgefunden werden konnte. Der

Pilz zeichnet sich dadurch aus, daß er in einer Petri-Schale große Kolonien bildet, bestehend aus bis 1 cm hohen, nach allen Seiten abstehenden, weißen, coremienartigen Hyphenbündeln, deren einzelne Hyphen an ihrem Scheitel zu wolligen Knäueln divergieren, welche nach etwa 14 Tagen durch massenhafte Konidienbildung ergrünen. Die Beschreibung gestaltet sich wie folgt:

Oospora egyptiaca nov. spec.

Fertile Hyphen kriechend oder, zu Bündeln vereint, aufsteigend, bis 1 cm hoch, weiß, nach etwa 14 Tagen durch Konidienbildung ergrünend, Farbe 347—346 (Code des Couleurs).

Konidienträger zahlreich, gerade oder wenig gebogen, unverzweigt, unseptiert, dichtgedrängt von den Hyphenbündeln allseitig abstehend, 23—40 μ lang, an der Basis 2—2,5 μ breit, am Scheitel lange Konidienketten abschnürend, welche im Wasser leicht in die einzelnen Konidien auseinanderfallen.

Konidien massenhaft, länglich eiförmig, an der einen Seite abgerundet, an der anderen Seite mehr oder weniger zugespitzt, einzeln hyalin, in großen Massen grünlich, akrogen, seltener eine einzelne Konidie pleurogen entstehend, 4,3—6,7 × 1,7—2,3 μ, im Mittel 4,6 × 2,1 μ.

Reinkulturen. Auf Bierwürze-Agar in Petri-Schalen nach 12 Tagen: langsam sich ausbreitende Kolonie, 2 × 2½ cm, bestehend aus langen, nach allen Seiten hin ausstrahlenden, coremienartigen Hyphenbündeln, welche am Scheitel wollige Knäuel bilden, bis 1 cm hoch. Rand flach und scharf. Kein Geruch. Unterseite etwas gelblich. Nach 1 Monat sind die Kolonien hellgrün, die Farbe hält die Mitte zwischen 347 und 348. Auf Röhrchen nach 20 Tagen:

Auf Bierwürze-, Kirsch- und Kartoffelagar: Decke krauswollig durch zahlreiche kurze Hyphenbündel, welche durch massenhafte Konidienbildung puderig erscheinen, Farbe grün, zwischen 347 und 348. Der Agar der Kirschsaft-Röhrchen intensiv rotorange, etwa 8—44.

Hab. Aus der Erde bei Cairo (Sabet).

Zusammenfassung.

Es werden folgende im Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn (Holland) untersuchte neue Pilzarten beschrieben: Trigonia bambusae nov. gen., Cryptomela acutispora, Cephalosporium tabacinum, Chloridium crateriforme und Oospora egyptiaca.

Über die Temperaturabhängigkeit der Aktivität und die Vorzugstemperatur von Stomoxys calcitrans, Musca vicina und M. crassirostris in Südafrika.

[Aus den tierärztlichen Instituten zu Onderstepoort bei Pretoria (Südafrika). Direktor: Prof. Dr. P. J. du Toit.]

Von Dr. **Otto Nieschulz**, Universität Utrecht
und **René du Toit**, B. V. Sc., Onderstepoort.

Während unserer gemeinsamen Arbeiten in Südafrika konnten wir einige Versuche über die Temperaturbegrenzung der Aktivitätsstufen von Stomoxys calcitrans, Musca vicina und M. crassirostris und über die Vorzugstemperatur der ersten beiden Arten machen. Es konnte sich dabei allerdings nur um Richtversuche handeln, da unsere Zeit hauptsächlich mit anderen Arbeiten besetzt war.

Über die Temperaturabhängigkeit der Aktivität und über die Vorzugstemperatur hatte einer von uns bereits Versuche mit Stomoxys calcitrans in Holland gemacht [Nieschulz (1933a, 1933b)] und entsprechende Untersuchungen an Musca domestica sind beabsichtigt. Im Verband mit diesen Arbeiten schien es uns interessant, festzustellen, wie sich in Südafrika unter denselben Versuchsbedingungen Stomoxys calcitrans und Musca vicina, der tropische Vertreter von M. domestica, verhält. Musca crassirostris, mit der noch einige Versuche gemacht wurden, ist eine echte blutsaugende Art, über deren Vorkommen in Transvaal wir kürzlich berichtet haben [du Toit und Nieschulz (1933)].

1. Versuche über die Temperaturabgrenzung der Aktivitätsstufen.

Die Aktivität wurde wie in der früheren Arbeit über Stomoxys in 6 Stufen geteilt, die durch die folgenden Fixpunkte abgegrenzt werden: 1. Beginn der ersten Bewegung, 2. Beginn schwacher Aktivität, 3. Beginn normaler Aktivität, 4. Beginn erhöhter Aktivität, 5. Beginn starker Unruhe, 6. Beginn der Wärmeparalyse und 7. Beginn der völligen Wärmestarre. Die genaue Abgrenzung dieser Stufen und die möglichen Fehler sind in der obenerwähnten Arbeit genauer beschrieben worden.

Die Untersuchungstechnik war wieder ziemlich einfach. Die Fliegen wurden zu je 3 geschieden durch kleine Gazewände in Reagenzgläser mit Gummikorken abgeschlossen. Die Röhrchen wurden in ein Wasserbad eingetaucht und durch 2 quer zur Längsrichtung der Röhrchen angebrachte, wellenförmig gebogene Drähte einige Zentimeter unter Wasser gehalten. In einer Versuchsreihe wurden die Fliegen von 20° ausgehend um 1° in je 3 Min. steigend bis zum Tode erwärmt, in der zweiten Reihe erst durch Zufügen von Eis bis auf etwa 3° abgekühlt (Kältestarre) und dann ebenfalls um 1° je 3 Min. bis auf 20° erwärmt.

Die relative Luftfeuchtigkeit wurde unberücksichtigt gelassen. In den bereits erwähnten Versuchen mit Stomoxys in Holland hatte sich ergeben, daß bei dieser Versuchsanordnung verschiedene Luftfeuchtigkeitsgrade das Ergebnis nicht beeinflußten.

Das Material bestand aus sog. normalen Exemplaren, die ohne besondere Auswahl gefangen waren, Stomoxys calcitrans und Musca vicina an den Mauern der Stallgebäude und M. crassirostris auf Pferden im Felde. Die früheren Versuche hatten gezeigt, daß Geschlecht, Alter, Blutaufnahme und Entwicklungszustand der Eier keinen Einfluß ausübten.

a) Versuche mit Musca vicina.

Im ganzen wurden je 25 Männchen und Weibchen von der Kältestarre bis zum Auftreten normaler Aktivität und von 20° ausgehend bis zur völligen Wärmestarre im Wasserbade erwärmt.

Bei den Weibchen war der Beginn der einzelnen Fixpunkte und seine Variationsbreite für die:

erste Bewegung	6—17°,	durchschn.	10,8°.	Variationsbr.	11° (50% 2½, 75% 5½°)
schwache Aktivität	10—20°,	,,	13,5°.	,,	10° (50% 3½, 75% 4½°)
normale Aktivität	16—23½°,	,,	20,3°.	,,	7½° (50% 2, 75% 5½°)
erhöhte Aktivität	26½—30°,	,,	28,2°.	,,	3½° (50% 1½, 75% 2½°)
starke Unruhe	35—43°,	,,	37,7°.	,,	8° (50% 1½, 75% 2½°)
Wärmeparalyse	42½—47°,	,,	45,8°.	,,	4½° (50% 1, 75% 1½°)
völlige Wärmestarre	44½—48°,	,,	46,7°.	,,	3½° (50% 1, 75% 1°)

Bei den Männchen war der Beginn der einzelnen Fixpunkte und seine Variationsbreite:

erste Bewegung	9½—19°,	durchschn.	12,1°.	Variationsbr.	9½° (50% 3, 75% 5°)
schwache Aktivität	12½—21°,	,,	16,8°.	,,	8½° (50% 3, 75% 5°)
normale Aktivität	19—24°,	,,	21,5°.	,,	5° (50% 3, 75% 4°)
erhöhte Aktivität	25—29°,	,,	26,8°.	,,	4° (50% ½, 75% 2°)
starke Unruhe	35½—38½°,	,,	37,0°.	,,	3° (50% 1½, 75% 2°)
Wärmeparalyse	42—47½°,	,,	45,0°.	,,	5½° (50% 4½, 75% 1½°)
völlige Wärmestarre	42—48½°,	,,	46,4°.	,,	6½° (50% 2½, 75% 1½°)

Die Beurteilung dieser Werte soll später mit denen von S. calcitrans und M. crassirostris zusammen erfolgen.

b) Versuche mit Stomoxys calcitrans.

Von S. calcitrans wurden 20 Weibchen in beiden Versuchsreihen gebraucht. Es war dabei der Beginn der einzelnen Fixpunkte und seine Variationsbreite für die:

erste Bewegung	5½—15½°,	durchschn.	11,1°.	Variationsbr.	10° (50% 5, 75% 6½°)
schwache Aktivität	10½—20½°,	,,	16,0°.	,,	10° (50% 5, 75% 7°)
normale Aktivität	14—21½°,	,,	19,4°.	,,	7½° (50% 1, 75% 2½°)
erhöhte Aktivität	26—32½°,	,,	28,1°.	,,	6½° (50% 1½, 75% 3°)
starke Unruhe	34½—39½°,	,,	36,4°.	,,	5° (50% 2, 75% 3½°)
Wärmeparalyse	42—43½°,	,,	42,7°.	,,	1½° (50% 1, 75% 1°)
völlige Wärmestarre	43½—45°,	,,	43,9°.	,,	1½° (50% 1, 75% 1°).

Auch die Beurteilung dieser Ergebnisse erfolgt später.

c) Versuche mit Musca crassirostris.

Von M. crassirostris wurden nur 3 ♂ und 5 ♀ untersucht. Wegen des geringen Materials soll von einer getrennten Behandlung der beiden Geschlechter abgesehen werden. Der Beginn der einzelnen Fixpunkte war für die:

erste Bewegung	8—16°,	durchschn.	10,4°
schwache Aktivität	8½—17°,	,,	13,6°
normale Aktivität	19—22°,	,,	20,4°
erhöhte Aktivität	25—28°,	,,	25,9°
starke Unruhe	34½—37°,	,,	36,1°
Wärmeparalyse	42—46½°,	,,	44,9°
völlige Wärmestarre	43½—47½°,	,,	46,3°

Diese Versuche sollen ebenfalls noch im letzten Absatz besprochen werden.

2. Versuche über Vorzugstemperaturen.

Für die Bestimmung der Vorzugstemperatur von Fliegen hat einer von uns einen Temperaturwahlapparat beschrieben [Nieschulz (1933)], der eine verbesserte Ausführung der Herterschen Temperaturorgel darstellte. In Onderstepoort wurde ein ähnlicher Apparat angefertigt. Eine genaue Beschreibung erübrigt sich hier, da die Ausführung mit dem Originalapparat, von geringen Abänderungen abgesehen, übereinstimmte.

Besser war in dem neuen Apparat die Isolierung des Versuchsraums, zu der eine ziemlich breite Schicht von gebrochenem Kork gebraucht war. Der Temperaturabfall war dadurch recht gleichmäßig und die Temperaturabfallkurve (aus den Thermometerangaben konstruiert) zeigte einen beinahe geradlinigen Verlauf.

Die Vorzugstemperatur von europäischen Stomoxys war mit einem derartigen Apparat bereits bestimmt [Nieschulz (1933a), vorläufige Mitteilung, ausführliche Arbeit erscheint demnächst]. In Südafrika machten wir auf dieselbe Weise einige Versuche mit Stomoxys calcitrans und Musca vicina.

Wie in den früheren Versuchen mit Stomoxys wurden die Fliegen, nachdem sich die Temperatur eingestellt hatte, in den Apparat gelassen, ½ Std. gewartet und danach 15 Min. lang nach je genau 60 Sek. der Aufenthaltsort jeder Fliege notiert, wobei aber nur die ruhenden Exemplare berücksichtigt wurden. Am Beginn und Ende der Versuche wurden die Thermometerstände abgelesen und nach der aus ihnen konstruierten Kurve die Temperatur festgestellt, unter denen sich die einzelnen Exemplare befunden hatten. Für jeden Versuch wurden meist 5 Exemplare gebraucht. Bei einer größeren Anzahl stören sich die Fliegen leicht gegenseitig.

a) Versuche mit Musca vicina.

Mit Weibchen von M. vicina wurden 5 Versuche gemacht, jeder mit 5 Exemplaren. Die Fliegen waren wieder ohne Auswahl gefangen. Es wurden die folgenden Ergebnisse erzielt:

Experiment	1.	59	Beobachtungen,	Vorzugstemp.	durchschn.	28,5° (13—35½).
,,	2.	47	,,	,,	,,	34,0° (27½—37½).
,,	3.	44	,,	,,	,,	31,8° (23½—41).
,,	4.	22	,,	,,	,,	32,0° (23—37).
,,	5.	54	,,	,,	,,	35,2° (26½—39).

Im ganzen wurden in diesen 5 Versuchen 226 Beobachtungen gemacht. Hätte sich keine Fliege während der ganzen Beobachtungszeit bewegt, dann würde die Zahl der Beobachtungen 375 betragen, so daß etwa 60% der möglichen Beobachtungen gemacht wurden. Die Fliegen waren also während der Versuche nicht sehr ruhig, ihre Beweglichkeit war aber auch nicht sehr groß.

Die Fliegen wurden im Apparat bei Temperaturen von 13—41° beobachtet. Der Durchschnitt lag in den einzelnen Versuchen zwischen 28,5 und 35,2° und war für alle Versuche zusammen 32,2°.

In dem ersten Versuch war eine Fliege in den kalten Teil des Apparates gekommen und dort zwischen 13 und 17½° geblieben. Es konnte sich hierbei sicher nicht um die normale Vorzugstemperatur handeln (siehe Stomoxys). Vernachlässigen wir dieses Exemplar, so erhalten wir für diesen Versuch einen Durchschnitt von 33,3°. Der Durchschnitt in den einzelnen Versuchen kommt dann zwischen 31,8 und 35,2° zu liegen und der gereinigte Gesamtdurchschnitt für alle Versuche wäre 33,5°.

b) Versuche mit Stomoxys calcitrans.

Mit Stomoxys wurden 4 Versuche wieder mit Weibchen gemacht, 3 mit 5 und 1 Versuch mit 10 Exemplaren. Die Fliegen waren wieder ohne besondere Auswahl gefangen. Es wurden die folgenden Ergebnisse erhalten:

Experiment	1.	74	Beobachtungen,	Vorzugstemp.	durchschn.	22,4° (10—35°).
,,	2.	52	,,	,,	,,	26,0° (13½—33).
,,	3.	66	,,	,,	,,	16,9° (9½—33).
,,	4.	119	,,	,,	,,	17,4° (8½—31½).

Im ganzen wurden in diesen Versuchen 311 oder 83% der möglichen Beobachtungen gemacht. Die Fliegen verhielten sich also im Apparat ziemlich ruhig. Sie wurden bei Temperaturen zwischen 8½ und 35° beobachtet. Der Durchschnitt der einzelnen Versuche lag zwischen 17,4 und 22,4°. In jedem der Versuche war aber, weit häufiger als bei Musca vicina, ein Teil der Fliegen in den kalten Teil des Apparates gelangt. Tiere, die dort einmal hingekommen sind, werden, wenn sie dort einige Zeit verbleiben, häufig von der Kälte befangen. Geringe Wärmeunterschiede, die ihnen den Weg zum warmen Teil des Apparates weisen könnten, empfinden sie anscheinend bei niedrigen Temperaturen nicht. Das Verbleiben im kalten Teil des Apparates hängt aber nicht mit einer Vorliebe für tiefere Temperaturen zusammen, denn in früheren Versuchen konnte festgestellt werden, daß derartige Exemplare, wenn sie aufgescheucht werden, die für die Art typischen Vorzugstemperaturen aufsuchen.

Vernachlässigen wir in diesen Versuchen die Beobachtungen, nach denen sich die Fliegen bei Temperaturen unter 20° aufhielten, so erhalten wir die folgenden gereinigten Werte:

Experiment	1.	44	Beobachtungen,	Vorzugstemp.	durchschn.	30,3° (Max. 35°).
,,	2.	43	,,	,,	,,	28,4° (,, 33°).
,,	3.	21	,,	,,	,,	28,8° (,, 33°).
,,	4.	49	,,	,,	,,	27,4° (,, 31½°).

Es bleiben bei dieser Berechnung 157 Beobachtungen übrig. Der Durchschnitt lag in den einzelnen Versuchen zwischen 27,4 und 30,3°. Der gereinigte Gesamtdurchschnitt für alle Versuche war 28,7°.

3. Beurteilung der Ergebnisse.

Bei der Beurteilung der Resultate müssen wir berücksichtigen, daß die Abgrenzung der Aktivitätsstufen nach der von uns angewandten Methode nur Annäherungswerte geben kann. Besonders bei den niedrigeren Stufen fehlt eine scharfe Abgrenzung und die Variationsbreite ist demzufolge dort besonders groß. Größere Versuchsreihen mit Stomoxys in Europa hatten aber ergeben, daß die Durchschnittswerte für orientierende Zwecke recht gut brauchbar sind.

Vergleichen wir zunächst bei Stomoxys calcitrans den Beginn der einzelnen Aktivitätsstufen der Versuche in Südafrika und in Europa (nach dem Gesamtdurchschnitt aus 170 Versuchen unter verschiedenen Bedingungen), so erhalten wir (die Differenzen zwischen Klammern beigefügt) für den Beginn der ersten Bewegungen 11,1 und 10,1° (1,0°), der schwachen Aktivität 16,0 und 14,4° (1,6°), der normalen Aktivität 19,4 und 18,0° (1,4°), der erhöhten Aktivität 28,1 und 28,2° (0,1°), der starken Unruhe 36,4 und 36,8° (0,4°), der Wärmeparalyse 42,7 und 42,6° (0,1°) und der völligen Wärmestarre 43,9 und 43,6° (0,3°).

Diese Gegenüberstellung zeigt eine ziemlich gute Übereinstimmung zwischen den Beobachtungen in Europa und Südafrika. Unterschiede bestehen für den Beginn der ersten Bewegungen, der schwachen und normalen Aktivität, die für Afrika 1—1,6° höher liegen. Es stellen also vielleicht die niedrigeren Stufen der Aktivität bis zur normalen in Afrika etwas höhere Ansprüche an die Temperatur. Bei der angewandten Methodik und den beträchtlichen individuellen Unterschieden gerade in diesen Stadien, möchten wir es aber dahingestellt sein lassen, ob es sich um Unterschiede prinzipieller Natur handelt. Auffallend gute Übereinstimmungen weisen die Werte von der erhöhten Aktivität bis zur völligen Wärmestarre auf (Differenzen unter ½°). Gegenüber höheren Temperaturen sind die afrikanischen Stomoxys also ebenso empfindlich wie die europäischen Exemplare.

Bei Musca vicina hatten wir für den Beginn der einzelnen Stufen die folgenden Werte für Weibchen und Männchen erhalten (Differenzen zwischen Klammern beigefügt): Für die ersten Bewegungen 10,8 und 12,1° (1,3°), die schwache Aktivität 13,5 und 16,8° (3,5°), die normale Aktivität 20,3 und 21,5° (1,2°), die erhöhte Aktivität 28,2 und 26,8° (1,4°), die starke Unruhe 37,7 und 37,0° (0,7°), die Wärmeparalyse 45,8 und 45,0° (0,8°) und die völlige Wärmestarre 46,7 und 46,4° (0,3°). Die Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen waren hiernach für die schwache Aktivität nicht unerheblich (3,3°). Es macht allerdings gerade die Abgrenzung dieses Stadiums gewisse Schwierigkeiten und außerdem war bei den unteren Grenzpunkten die individuelle Variation am stärksten ausgeprägt.

Vergleichen wir die Werte von M. vicina (Durchschnitt von Männchen und Weibchen) mit denen von Stomoxys, so erhalten wir die folgenden Unterschiede. Erste Bewegung 0,3, schwache Aktivität 0,9, normale Aktivität 1,5, erhöhte Aktivität 0,6, starke Unruhe 1,0, Wärmeparalyse 2,7 und völlige Wärmestarre 2,6°. Wir finden hier also eine ziemlich gute Übereinstimmung von der ersten Bewegung ab bis zur erhöhten Aktivität. Deutliche Unterschiede weist der Beginn der Wärmeparalyse und der Eintritt der völligen Wärmestarre auf (2,7 bzw. 2,6°). Gerade diese Stufen haben aber eine geringe individuelle Variation, so daß es sich hierbei tatsächlich um prinzipielle Unterschiede handelt. M. vicina kann also sehr hohe Temperaturen besser vertragen als S. calcitrans.

Bei Musca crassirostris haben wir für den Beginn der einzelnen Aktivitätsstufen die folgenden Werte erhalten. Die Differenzen mit den Durchschnittswerten von M. vicina sind zwischen Klammern beigefügt. Erste Bewegung 10,4 (1,1), schwache Aktivität 13,6 (1,7), normale Aktivität 20,4 (0,5), erhöhte Aktivität 25,9 (1,6), starke Unruhe 36,1 (1,2), Wärmeparalyse 44,9 (0,6) und die völlige Wärmestarre 46,3° (0,3°). Die Unterschiede liegen zwischen 0,3 und 1,7°. Soweit das geringe Material ein Urteil zuläßt, verhalten sich die beiden Arten gleich, besonders auch hohen

Temperaturen gegenüber (Differenzen bei Wärmeparalyse und Wärmestarre nur 0,6 und 0,3°).

Die Vorzugstemperatur lag in unseren Versuchen mit Stomoxys calcitrans in Südafrika durchschnittlich zwischen 27,4 und 30 3° bei einem Gesamtdurchschnitt von 28,7° (gereinigte Werte). In 20 unter denselben Bedingungen in Europa gemachten Versuchen war der Durchschnitt der Vorzugstemperatur für Weibchen 25,9—29,6°, für alle Versuche zusammen 27,7°, in 10 Versuchen mit Männchen 28,8°. Die Vorzugstemperaturen der afrikanischen und europäischen Exemplare stimmte also wie die Abgrenzung der Aktivitätsstufen ziemlich gut miteinander überein.

In Versuchen mit Musca vicina war die Vorzugstemperatur durchschnittlich 31,8 bis 33,3°, der Gesamtdurchschnitt aller Versuche 33,5° (gereinigte Werte). Die Vorzugstemperatur liegt also bei M. vicina beinahe 5° höher als bei Stomoxys.

Während die Vorzugstemperatur bei Stomoxys etwa mit dem Beginn der erhöhten Aktivität zusammenfällt, liegt sie bei M. vicina in der Mitte des Gebietes der erhöhten Aktivität. Zwischen der Vorzugstemperatur und der Verträglichkeit hoher Temperaturen scheint eine Abhängigkeit zu bestehen. Je später der Eintritt der Wärmeparalyse erfolgt, desto höher liegt die Vorzugstemperatur.

Zusammenfassung.

In Südafrika wurde in einigen Richtversuchen die Temperaturbegrenzung der verschiedenen Aktivitätsstufen von Stomoxys calcitrans, Musca vicina und M. crassirostris durch langsames Erwärmen von der Kältestarre bis zum Hitzetod festgestellt und in einem Temperaturwahlapparat die Vorzugstemperatur der ersten beiden Arten.

Die Aktivitätsstufen der afrikanischen Exemplare von S. calcitrans lagen praktisch in demselben Temperaturgebiet wie bei den europäischen Exemplaren. Auch die Hitzeschädigungen traten bei derselben Temperatur auf (Beginn der Wärmeparalyse bei 42,7, der völligen Wärmestarre bei 43,9°).

Bei Musca vicina traten die Hitzeschädigungen deutlich später auf als bei Stomoxys (Beginn der Wärmeparalyse bei 45,4, der völligen Wärmestarre bei 46,5°). Bei den übrigen Stufen waren keine deutlichen Unterschiede vorhanden.

Die Vorzugstemperatur der südafrikanischen Stomoxys betrug durchschnittlich 28,7° und stimmte gut mit den für europäische Exemplare gefundenen Werten überein. Die Vorzugstemperatur von M. vicina lag durchschnittlich bei 33,5°, also um 5° höher als bei Stomoxys. Es scheint zwischen der Höhe der Vorzugstemperatur und der Verträglichkeit hoher Temperaturen eine Abhängigkeit zu bestehen.

Literaturübersicht.

Nieschulz, O., Zool. Anzeiger. Bd. 103. 1933. S. 21—29. — Ders., Nederl.-Ind. Blad. v. Diergeneeskd. (1933a) im Druck. — Ders., Ztschr. f. Parasitenkd. (1933b) im Druck. — Nieschulz, O. und du Toit, R., Journ. South. Afric. Vet. Med. Ass. Vol. 4. 1933. p. 97—98.

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Badian, J., Eine zytologische Untersuchung über das Chromatin und den Entwicklungszyklus der Bakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 409—418.)

Verf. findet, daß die Bakterien, von denen B. subtilis und B. mycoides untersucht wurden, in zytologischer Hinsicht den Myxobakterien sehr ähnlich seien. Die Ergebnisse stützen sich auf eine modifizierte Giemsa-Färbung, wobei die Differenzierung mit 0,5 bis 1proz. Eosinlösung erfolgt. Die Bakterien werden vorher durch Osmiumsäuredämpfe fixiert.

Danach enthielten die Bakterien 1 Chromosom von stäbchenförmiger, oft an den Enden kugelig verdickter Gestalt, das frei im Plasma liegt und während der Zellteilung eine Längsteilung erfährt, wobei es sich in Querlage stellt. Vor der Sporenbildung verschmelzen 2 Tochterchromosome an ihren Schmalseiten (Autogamie); nach der Verschmelzung erfolgt 2malige (Tetraden-) Teilung; von den 4 Tochterchromosomen geht 1 in die Spore, die 3 anderen werden abgestoßen. Die Spore der Bakterien soll dem Myxococcus-Keimstäbchen bei den Myxobakterien homolog sein.

Verf. deutet noch kurz an, daß eine Übereinstimmung dieser mit den von Pietschmann-Rippel mit der Feulgenschen Nuklealreaktion gefundenen Ergebnissen nicht besteht. Der Ref. möchte indessen darauf hinweisen, daß die Giemsa-Färbung kaum kernspezifisch sein dürfte. Rippel (Göttingen).

Schmidt, H., Über Dimorphie bei Milzbrand-, Wurzelbazillen und Sarzinen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 115. 1933. S. 54—62.)

Milzbrand- und Wurzelbazillen ließen sich nach monatelangem Aufenthalt in Wasser in zwei auch morphologisch verschiedene Formen spalten. Die eine Form bildete geschlossene, die andere lockige oder verästelte Kolonien. Diese Variationserscheinung wird als Dissoziation (Hadley) aufgefaßt. Der von Haag, Oesterle und Stahl bei diesen Bazillenarten beschriebene Formenkreislauf konnte nicht bestätigt werden. Es wurden lediglich Veränderungen beobachtet, die als Reiz- oder Entartungsformen gedeutet werden. Wohl aber konnte bei 4 von 13 Sarzinenstämmen in Übereinstimmung mit den Angaben von Schmidt-Kehl unter dem Einfluß von Lithiumsalzen ein deutlicher Formenkreislauf nachgewiesen werden. Dieser führte im Laufe von Wochen von Sarzinen zu gramnegativen beweglichen Stäbchen und wieder zurück zu Sarzinen. Als Übergangsformen wurden Stäbchen mit Längsteilung gefunden.

Rodenkirchen (Duisburg).

Beyer, W., Über Veränderlichkeit der Ruhrbazillen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 47—53.)

Zahlreiche Ruhrstämme traten in den bekannten R- und S-Formen auf. Diese waren teils beständig, teils spalteten sie sich wieder. Die alternden Ruhrbazillen zerfielen in Granula, die keiner weiteren Entwicklung mehr fähig waren. Unter dem Einfluß von Lithiumchlorid entstanden kleinere und größere hefeartige Formen, von denen sich die ersteren auf dem glei-

chen Nährboden einige Zeit als solche, später als normale Formen fortzüchten ließen. Die letzteren aber verfielen der Entartung. Das Vorkommen von Pettenkoferien wird abgelenkt. Auch die C-Formen Kuhns konnten nicht nachgewiesen werden. Rodenkirchen (Duisburg).

Hettche, H. O. und Bormann, F. v., Über die Umwandlung grampositiver Kokken in gramnegative „Körnchen". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 144—149.)

Auf eiweißreichen Nährböden zeigten Staphylokokken (eine ähnliche Erscheinung wurde bei Pneumokokken beobachtet) bei aerober Bebrütung eine Aufhellung der Kolonie vom Rande her. Nach ca. 5 Tagen waren die Kolonien glasig durchsichtig. Im Klatschpräparat zeigte die Randzone einer solchen Kolonie grampositive Kokken, das Zentrum dagegen gramnegative kleine runde und ovoide Gebilde. Diese „Körnchen", die nicht vermehrungsfähig waren, lösten sich schließlich auf und es entstand ein Kokkenwall. Rodenkirchen (Duisburg).

Meyer, K., Zur experimentellen Erzeugung und Umwandlung von Enterokokkenformen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 106—110.)

Die Angaben von Beck und Braun, die die Umwandlung von hämolytischen Streptokokken in Enterokokken bei Züchtung in Urin beobachteten, konnten nicht bestätigt werden. Ebensowenig gelang bei Züchtung von Enterokokken in saurer Bouillon eine Abänderung der typischen kulturellen und serologischen Eigenschaften. Es spricht nichts dafür, daß die Enterokokken „Degradationsformen" anderer Streptokokkentypen sind. Allein die serologische Typenspezifität der Enterokokken macht diese Auffassung unhaltbar. Rodenkirchen (Duisburg).

Hirsch, W., Über das sogenannte „Bacterium typhi flavum". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 413—436.)

Eingehende Beschreibung von Gelbkeimen, die aus menschlichem Untersuchungsmaterial, aus Wasser, Luft und Wiesenheu gezüchtet wurden. Irgendwelche Beziehungen auch der aus menschlichem Material gewonnenen Stämme zum Bact. typhi werden abgelehnt.
Rodenkirchen (Duisburg).

Spassky, N. N., Untersuchungen über die Scharlachstreptokokken-Dissoziation. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 245—251.)

Es werden S-, R-, O- (Übergangs-) und L-Formen beschrieben. Die Kolonien des Typus L sind auf Agarplatten sehr klein und zart, mit unbewaffnetem Auge kaum sichtbar, durchsichtig, feinkörnig. Nach 24—48 Std. unterliegen sie der Lysis. Überimpfungen ergeben weder auf festen noch in flüssigen Nährböden Wachstum. Die R-Form ist nicht hämolytisch, biochemisch weniger aktiv als die S-Form und bildet kein Toxin. Mikroskopisch erscheint der R-Typus als diphtherieähnliche Stäbchen mit Volutinkörnern. Der Dissoziationsvorgang geht in der Richtung S → R. Der umgekehrte Vorgang wurde nicht beobachtet. Filtrierbare Formen wurden nicht gefunden. Rodenkirchen (Duisburg).

Łomiński, J., Beiträge zum Studium des Tuberkelbazillus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 276—294.)

Tuberkelbazillen machen nach den Beobachtungen des Verf.s einen Entwicklungszyklus durch, der danach aus einer bazillären und aus einer korpuskulären Phase besteht. Die minimale Dauer des gesamten Zyklus betrug für den untersuchten Stamm 94 Std. Davon entfielen 84 Std. auf die bazilläre Phase, 10 auf die korpuskuläre Phase. Die hierbei auftretenden säurefesten Granula werden für Vermehrungsprodukte gehalten und als Mikrogonidien, Makrogonidien und Regenerationskörperchen im Sinne von Löhnis bezeichnet. Rodenkirchen (Duisburg).

Gróh, E., Über die Körnchen und Entwicklung des Tuberkuloseerregers. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 353—368.)

Nach den Untersuchungen des Verf.s vermehrt sich der Tuberkelbazillus nicht durch Querteilung, sondern durch sporenartige Körnchen. Diese Körnchen entstehen danach in den Stäbchen und sprengen dieses durch ihr Wachstum. Aus jedem Körnchen soll sich wieder ein Stäbchen entwickeln. Rodenkirchen (Duisburg).

Krzemieniewska, H., Contribution à l'étude du genre Cythophaga (Winogradsky). (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 394—408.)

Winogradsky hatte den Befund der Verf.n, wonach bei dem Zellulosezersetzer „Spirochaeta cytophaga" Kokken (Mikrozysten) und Stäbchen zusammengehören sollen, in Zweifel gezogen. Nach erneuten Untersuchungen kommt sie zu dem Schluß, daß Cythophaga Hutchinsoni Winogradsky tatsächlich keine Mikrozysten bildet, wohl aber eine andere, ihr sonst sehr ähnliche Form, für die Verf.n an Stelle des obengenannten Namens die Bezeichnung Cytophaga myxococcoides (wegen der Ähnlichkeit mit Myxobakterien) vorschlägt.

Die weiteren Untersuchungen befassen sich mit der Keimung der Mikrozysten. Sie keimen ohne Ruhepause und nur aerob; die Keimung wird durch die Zersetzungsprodukte der Zellulose (Schleim usw) sehr gefördert; der optimale p_H ist 7,5—9,5. Die Keimung erfolgt auch in reiner Mineralsalzlösung ohne Gegenwart von Zellulose, die allerdings fördert. Gegenwart von Zucker, selbst bis 0,5%, beeinflußt die Keimung nicht. Die Temperaturgrenzen für die Keimung sind (9—11) — 36°, Optimum 26—32°. Die Mikrozysten vertragen 10 Min. 62°, die Stäbchen 58°. Beide können lufttrocken werden, ohne abzusterben; die Keimung der Mikrozysten ist allerdings dann um einige Stunden verzögert. Rippel (Göttingen).

Dimitrijević-Speth, V., Der Einfluß der Nährbodendichte auf die schwärmhemmende Wirkung des Kalziumchlorids und die Bedingungen seiner Anwendung in festen Nährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 456—459.)

Kalziumchlorid vermag in einer Konzentration von 1 : 500—1 : 800 in 2,5 proz. Agarnährböden das Schwärmen des Proteus zu verhindern. Diese schwärmhemmende Wirkung des Kalziumchlorids steht in enger Beziehung zur Dichte des Nährbodens und beruht auf sukzessiver und vollständig reversibler Lähmung der Bewegungskraft der Geißeln. Zur Vermeidung der

chemischen Umsetzung und der Ausfällung des Kalziumchlorids sind verschiedene Maßnahmen unumgänglich notwendig. Als Nährbrühe muß unter Verwendung von Aq. dest. eine phosphatarme Fermentationsbrühe (z. B. Hottingerbrühe) genommen werden. Da eine höhere Alkalisierung ebenfalls zur Ausfällung des Kalziumchlorids führt, empfiehlt sich neutrale oder schwach saure Einstellung. Zur Säuerung oder Alkalisierung darf nur Salzsäure oder Natronlauge dienen; Schwefelsäure, Salpetersäure, sowie Karbonate fällen Kalk. Die Platten müssen immer nachgetrocknet werden. Jedes Agarpreßwasser führt zum Schwärmen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Habs, H. und **Blau, N.**, Über den Einfluß des Stickstoffgehalts des Nährmediums auf die Zusammensetzung der Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 358—369.)

Die Ergebnisse von Cramer, nach denen die Größe des Eiweißgehaltes der Bakterien weitgehend von der des Nährbodens abhängig ist, konnten nicht bestätigt werden. Wohl zeigten sich bei allen Bakterienarten die Trockensubstanz- und die Stickstoffmenge in den Bakterienrasen vom Agar mit höherem Stickstoffgehalt erhöht, doch war dies darauf zurückzuführen, daß der Wassergehalt der einzelnen Bakterien niedriger war. Wurde anderseits (nach Cramer) der Stickstoffgehalt auf die Trockensubstanz der Bakterienmasse bezogen, so ergab sich nur bei schleimbildenden Bakterien eine Abhängigkeit des prozentualen Stickstoffgehalts von dem Stickstoffgehalt des Nährbodens. Die Umrechnung der gefundenen Stickstoffwerte auf die Zahl der in den Bakterienrasen enthaltenen Keime ergab aber, daß die Bakterienernte vom stickstoffreicheren Agar relativ reicher an Zellen war als diejenige des Normalagars. Also auch bei den Bakterien aus der Gruppe der Schleimbildner keine Abhängigkeit des Stickstoffgehalts der Bakterienzellen von der Beschaffenheit des Nährbodens.

Rodenkirchen (Duisburg).

Aksjanjew, M., Über die Beziehung zwischen dem Stoffwechsel (Atmung und Gärung) einiger Bakterienstämme und ihrer Virulenz. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 79. 1933. S. 205—218.)

Bei manchen Bakterientypen wird die Stoffwechselenergie hauptsächlich durch die Atmung, bei anderen durch Glykolyse geliefert. Während bei den nicht virulenten und schwach virulenten Stämmen in erster Linie ein Atmungsstoffwechsel vorliegt, ist bei virulenten Stämmen auch ein Spaltungsstoffwechsel vorhanden. Einige Stämme, die ihre Stoffwechselenergie bei aeroben Bedingungen durch Atmung decken, produzieren bei völliger Anaerobiose oder bei Vergiftung der Atmung durch Zyanide die für den Stoffwechsel nötige Energie durch glykolytische Prozesse. Durch Kaliumzyanid von n/1000—n/500 läßt sich die Atmung, durch Kaliumzyanid von n/200—n/100 die Glykolyse der Bakterien hemmen. — Die Intensität des Stoffwechsels (Atmung und Glykolyse) ist stärker bei jungen Bakterienkulturen ausgeprägt. — Der Stoffwechsel der Bakterien läßt sich mit dem Stoffwechsel von Geweben und Zellelementen vergleichen. Die virulenten Stämme verhalten sich analog der Kulturhefe und den Tumoren, die nichtvirulenten und schwachvirulenten Stämme analog den wilden Hefen und dem normalen Gewebe.

Rodenkirchen (Duisburg).

Dupaix, A., Bacillus caryocyaneus Beijerinck-Dupaix 1930, étude morphologique et biologique. Recherches sur le mécanisme du phénomène de Charrin et Roger. Paris (Librairie Le François) 1933. 354 pp.

Bacillus caryocyaneus Beijerinck-Dupaix 1930 wurde einige Jahre vorher von Beijerinck isoliert, aber nicht beschrieben. Verf. gibt nun eine äußerst ausführliche Monographie dieses Bakteriums, deren 2. Teil sich allerdings nur mit Agglutinationserscheinungen befaßt. Das Bakterium gehört zur Fluoreszenten-Gruppe, ist aber von den ihm sehr ähnlichen B. cyaneo-fluorescens Zangemeister 1895, „bacille bleu" Mildenberg 1922, B. pyocyaneus Gessard 1882 durch morphologische, kulturelle und serologische Merkmale verschieden.

Das Bakterium zeigt in synthetischer Nährlösung zunächst prächtig grüne Fluoreszenz, außerdem einen blauen in Durchsicht violettroten Farbstoff (Caryocyanin), dessen Intensität mit der Zeit zunimmt, so daß die grüne Fluoreszenz verdeckt wird; ohne Magnesium und ohne Eisen wird der Farbstoff nicht gebildet. Bezüglich der zahllosen Einzelheiten der verdienstvollen Arbeit muß auf das Original verwiesen werden.

Rippel (Göttingen).

Prášek, E. und **Prica, M.**, Über die kohlehydratartige Substanz der Kapsel des B. rhinoscleromatis, B. ozaenae Abel und B. Friedländer. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 381—388.)

Verff. ist es erstmalig gelungen, in der Kapsel der Rhinosklerom-, Ozäna- und Friedländerbakterien die Anwesenheit von spezifischen löslichen kohlehydrathaltigen Substanzen (höchstwahrscheinlich handelt es sich um ein Galaktan) nachzuweisen. Es scheint, daß diese Substanzen keine antigene Natur besitzen, sondern zu dem sogenannten Restantigen bzw. zu den Haptenen im Sinne Landsteiners zuzuzählen sind.

Rodenkirchen (Duisburg).

Schwartz, W. und **Steinhart, H.**, Untersuchungen über die oligodynamische Wirkung des Kupfers. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 301—325.)

Die Verff. bestätigen zunächst die ertragfördernde Wirkung des Kupfers auf Aspergillus niger (10 verschiedene Stämme), wobei der Förderungsbereich bei 0,000 01—0,000 001% Cu in der Nährlösung lag, ferner die Bedeutung für die Ausbildung des schwarzbraunen Sporenfarbstoffes, der indessen selbst kein Cu enthält, während die ganzen Konidien solches aufweisen, das somit aus den Hyphen in die Sporen geleitet werden muß.

Cu wird in zunehmender Menge während des Verlaufes der Entwicklung aufgenommen und wandert schließlich wieder in die Nährlösung zurück, namentlich bei Einsetzen der Autolyse. Im übrigen sind die Verhältnisse von der Reaktion abhängig: Bei steigender Azidität wandert ein Teil des Cu in die Nährlösung zurück, fallende begünstigt die Cu-Aufnahme; selbst bei p_H 8,14 wird noch Cu aufgenommen, allerdings weniger als bei saurer Reaktion. Bei gepufferter saurer oder alkalischer Reaktion zeigt der Cu-Gehalt des Myzels nur geringe Schwankungen. Ein Teil des Myzel-Cu ist leicht auswaschbar, ein anderer schwer; nur dieser besteht vielleicht aus chemisch gebundenem Cu.

Ein Einfluß des Cu auf Reaktion, Oberflächenspannung, osmotischen Druck der Nährlösung oder auf Permeabilitat des Myzels konnte nicht nach-

gewiesen werden. Ein Einfluß auf den Stickstoffumsatz besteht im ersten Verlauf des Wachstums nicht; später findet sich im Filtrat bei Gegenwart von Cu mehr Ammoniak, aber niedrigere NH_2-Werte (v. Slyke-Methode). Verff. weisen noch auf das schnelle Eintreten der Nitratreduktion hin (mit und ohne Cu) und nehmen an, daß die Reduktionsprodukte mit dem Zucker reagieren und sich vorübergehend in der Nährlösung anhäufen.

Die Cu-Bestimmung wurde kolorimetrisch mit α-Nitroso-β-Naphthol bestimmt. Rippel (Göttingen).

Lange-de la Camp, M., Kulturversuche mit Flechtenpilzen (Xanthoria parietina). (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 367—393.)

Versuche mit Collema schlugen fehl, da wohl der Nostoc, nicht aber der Pilz gezüchtet werden konnte, bei dem es nur in einigen Fällen zu einem kümmerlichen, bald aufhörenden Wachstum kam. Weitere Versuche wurden daher mit Xanthoria parietina angestellt.

Der Pilz bildet in künstlicher Kultur keinen Thallus, der dem in der Natur vorkommenden Flechtenthallus morphologisch und histologisch gleicht, auch bei Zusatz der Alge nicht. Indessen lassen sich die einzelnen Schichten des künstl. Pilzthallus mit denen des natürl. Flechtenthallus homologisieren. Die Unterschiede bestehen hauptsächlich darin, daß die Lappen des natürl. Thallus beim künstl. nur durch Höcker am Rande angedeutet sind, und der künstl. Thallus wesentlich dicker ist und auch größere Zellen besitzt als der natürl. Thallus. Offenbar ist der künstl. Pilzthallus wesentlich besser ernährt.

Verf.n versuchte noch, den Pilz mit artfremden Algen zu kombinieren. Stichococcus bacillaris lag völlig regellos zwischen den Pilzhyphen, während bei Coccomyxa simplex Zellgruppen ähnlich, wenn auch nicht ganz so fest vom Pilz eingerahmt waren, wie es bei Cystococcus humicolus, dem normalen Symbionten, der Fall ist.

Rippel (Göttingen).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Kluyver, A. I. und **Stheemann, A. A.**, Zur Nomenklatur der an der alkoholischen Gärung beteiligten Katalysatoren. (Biochem. Z. Bd. 244. 1932. S. 366—369.)

Die von C. Neuberg und H. v. Euler vor kurzem vorgeschlagene neue Nomenklatur des Zymase-Co-Zymase-Komplexes wird für unzweckmäßig gehalten. Die Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, daß die Co-Zymase nur in Gemeinschaft mit mehreren untereinander gleichwertigen Aktivatoren imstande ist, die Gärung des thermolabilen, rein enzymatischen Zymasebestandteils, der Holozymase (Apozymase) zu aktivieren. Es wird daher vorgeschlagen, „den Grad der Inaktivierung eines Zymasesystems in der Weise zu charakterisieren, daß man angibt, welcher Aktivator oder welche Kombination von Aktivatoren zugesetzt werden müssen, um eine Reaktivierung zu bewirken. Mit Hinsicht auf die teilweise Ersetzbarkeit der verschiedenen Aktivatoren untereinander ist es vorläufig nicht durchführbar, diese mannigfachen Inaktivierungsstadien der Holozymase mit speziellen Namen zu belegen." R. Koch (Berlin).

Kuroya, M., Bildung und Umwandlung von Methylglyoxal durch Fermente der Tuberkel- und der

Timotheebazillen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 235. 1931. S. 438—443.)

Der Zuckerabbau verläuft bei Tuberkel- und Timotheebazillen ebenso wie bei den zahlreichen bisher untersuchten nichtpathogenen Mikroorganismen über das Methylglyoxal. Die stark wachshaltigen Bakterien wurden mehrere Tage bei Zimmertemperatur zwecks Entfernung der Wachshüllen mit Essigester behandelt. Durch diese Behandlung wurde das Co-Fermentsystem stärker geschädigt als die Glykolase und Phosphatase. Durch Dephosphorylierung von Hexose-Diphosphat entstanden reichliche Mengen Methylglyoxal, die isoliert und charakterisiert wurden. Die Weiterverarbeitung von Methylglyoxal verlief nur noch langsam. Die Ausbeute an Milchsäure war niedriger als normalerweise. R. Koch (Berlin).

Müller, D., Untersuchungen über Oxydasen in getöteten Essigbakterien. I. (Biochem. Z. Bd. 238. 1931. S. 253—267.)

Vorliegende Arbeit knüpft an die alten Untersuchungen E. Buchners an, welcher fand, daß getötete Essigbakterien Äthylalkohol zu Essigsäure und Propylalkohol zu Propionsäure zu oxydieren vermögen. Zwecks Gewinnung eines geeigneten Präparates toter Essigbakterien wurde vom Verf. in das 10fache Volumen von Aceton eine Aufschwemmung von Bacterium Pasteurianum eingetröpfelt. Das so erhaltene Präparat enthält nur noch sehr wenige in Plattenkultur auf Biergelatine entwicklungsfähige Keime. Von den in Wasser aufgeschwemmten abgetöteten Bakterien werden nur geringe Mengen Sauerstoff absorbiert. Nach Zusatz von Äthyl- und n-Propylalkohol vergrößert sich die Sauerstoffabsorption am meisten, weniger durch Isopropylalkohol, Methylalkohol und Äthylenglykol, noch weniger durch Glukose und fast nicht durch Glyzerin. Kalziumglykonat vergrößert die Sauerstoffabsorption nicht. Die auch durch lebende Essigbakterien bewirkte Oxydation von Isopropylalkohol zu Aceton findet auch in Gegenwart abgetöteter Bakterien statt, obwohl letztere nur 3—6% der durch die lebenden Bakterien erzielten Oxydationsgeschwindigkeit erreichen. ½ Std. auf 95° C erhitzte Essigbakterien oxydieren Isopropylalkohol nicht mehr. R. Koch (Berlin).

Belitzer, W. A. und Gorkin, E. N., Über die Natur der Zymasegärung. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 146—148.)

Bei 100° C während 6 Std. vorgetrocknete und zu feinem Pulver verriebene Hefe lieferte nach der Extraktion mit Wasser einen Saft, der nach dem Filtrieren und Zentrifugieren eine gute Gärkraft zeigte. Nichtzerriebene Hefe ergab einen gärunfähigen Extrakt. Bei Erhöhung der Viskosität des letzteren Saftes durch Gelatinezusatz blieb der Saft inaktiv. Verff. wollen auf diese Weise die Einwände Kostytschews gegen die Existenz der zellfreien Gärung widerlegen, welcher die Gärkraft des Hefemazerationssaftes nicht zentrifugierbaren ultravisiblen Organismen zuschreibt. R. Koch (Berlin).

v. Euler, H. und Philipson, T., Gärungsaktivatoren Z und Wachstumsstoffe. (Biochem. Z. Bd. 249. 1932. S. 245—256.)

Die als Gärungsaktivatoren Z bezeichneten Stoffe beschleunigen die Gärung der Hefe, ohne die Zellvermehrung merklich zu beeinflussen. Verff. unterscheiden zwei verschiedene Komponenten Z_1 und Z_2, für deren Wirkung Berechnungsmethoden angegeben werden. Als sehr reich an Z-Faktor erwiesen sich Mohrrüben, Weißkohl, Zwiebeln und Harn, deren Wirkung fast

an diejenige des Hefeextraktes heranreichte. Weniger wirksam waren Spinat und Eidotter, während Eiereiweiß keine Z-Wirkung zeigte. Verff. wiesen nach, daß sich Z_2 mittels frisch gefälltem $Zn(OH)_2$ aus Harn ausfällen läßt. Im Filtrat befand sich Z_1. Die im Hefenkochsaft vorhandenen Z-Stoffe wurden nach Vorbehandlung des Saftes mit $Hg(NO_3)_2$ gefällt. Die Aktivitäten verteilten sich dann auf Filtrat und Fällung. Ob es sich dabei um zwei oder mehrere Stoffe mit Z-Wirkung handelt, konnte nicht sicher entschieden werden. — Wachstumsstoffe von der Art des Wildierschen „Bios", welche für die Hefe vermehrung nötig sind, werden von verschiedenen Rhizopus-Arten, in schwächerem Maße auch von Penicillium in synthetischen Nährlösungen gebildet. Tee ist reich an Wachstumsstoff. Brennereihefe und Brauereihefe unterscheiden sich hinsichtlich ihres Biosbedürfnisses. Extrakte von Tee, auf denen Penicillium gewachsen ist, zeigen nach Beimpfung mit Hefe eine beträchtliche Verminderung ihrer wachstums-fördernden Wirkung.

R. Koch (Berlin).

Windisch, F., Wirksamkeit des Acetaldehyd dismutierenden Enzyms beim aerogenen Zellstoffwechsel. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 466—486.)

Die Oxydation des Alkohols zu Essigsäure mittels Essigbakterien verläuft über Acetaldehyd als Zwischenprodukt. Die Weiterverarbeitung dieses Aldehyds kann theoretisch auf zweierlei Weise erfolgen, einerseits durch Dehydrierung des Acetaldehyds zu Essigsäure, andererseits durch dismutative Spaltung des Aldehyds zu Alkohol und Essigsäure. Auf Grund früherer, in Gemeinschaft mit C. Neuberg durchgeführter Untersuchungen hatte sich Verf. für die zweite Möglichkeit entschieden. Obwohl diese Befunde von anderen Autoren inzwischen mehrfach bestätigt worden waren, kamen H. Wieland und A. Bertho auf Grund thermodynamischer Überlegungen zu dem Ergebnis, daß bei der aeroben Essiggärung die direkte Dehydrierung des Aldehyds zu Essigsäure die Hauptrolle spiele, während die Dismutation zu Alkohol und Essigsäure für die Vorgänge im Essigbildner praktisch belanglos sei. Zwecks Klärung dieser Frage untersuchte Verf. die Bildung von Essigsäure und Alkohol aus Acetaldehyd, sowie den dabei zu beobachtenden Sauerstoffverbrauch bei Verwendung der drei verschiedenen Essigbakterienarten Bact. ascendens, Bact. pasteurianum und Bact. aceti (Hansen). Zur Durchführung der quantitativen Stoffwechselversuche bediente sich Verf. seiner bereits früher beschriebenen makrometrischen Apparatur. Die Bakterienmenge war bei allen Versuchen bekannt, so daß die Resultate durch Bezug auf die gleiche Menge Bakterientrockensubstanz vergleichbar wurden. Es ergab sich, daß entgegen den Anschauungen von Wieland und Bertho auch bei der aeroben Essiggärung der Anteil der Dismutation an der Aldehydumwandlung nicht unbeträchtlich ist. Der aus dem Acetaldehyd auf diese Weise gebildete Alkohol ließ sich in Substanz gewinnen. Wurde die gefundene Alkoholmenge auf Essigsäure umgerechnet und in Beziehung zur Gesamtessigsäure gebracht, so ergab sich im günstigsten Falle eine Dismutationsgröße von 22%, trotz optimaler Luftversorgung der Essigbakterien.

R. Koch (Berlin).

Neuberg, C. und Simon, E., Über isoliertes Vorkommen von Carboxylase und über enzymatische Wirkungen des Essigbakteriums Bordeaux. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 225—230.)

Ein aus Bordeaux stammendes Weinessigbakterium war im Gegensatz zu den bisher darauf untersuchten Essigbakterien unfähig, unter anaeroben Bedingungen Zucker anzugreifen. Obwohl einige Teilenzyme der alkoholischen Zuckerspaltung nachweisbar waren, fehlte die Holozymase vollkommen und konnte bisher auch nicht angezüchtet werden. Das Bakterium vermochte aus Hexosediphosphat Methylglyoxal zu bilden, Methylglyoxal in Milchsäure zu verwandeln und Brenztraubensäure karboxylatisch zu zerlegen. R. Koch (Berlin).

Hofmann, E., Über das physiologische Verhalten der Ureidolaktose und der Ureidomaltose, insbesondere über die enzymatische Spaltung der beiden Disaccharid-Ureide. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 462—469.)

Die auch in höheren und niederen Pflanzen vorkommenden Zuckerureide werden durch Sojabohnenurease nicht angegriffen. Gewisse Bakterien sind aber imstande, Zuckerureide ohne Hydrolyse unter Ammoniakbildung zu zerlegen. Laktoseureid wird sowohl von Emulsin als auch von den Fermenten verschiedener Milchzuckerhefen zu d-Galaktose und d-Glukoseureid gespalten. Dabei wird also nur das Disaccharid, nicht aber die Zucker-Harnstoffbindung zerlegt. Als Enzymmaterial dienten Essigesterpräparate von Sacch. fragilis Jörgensen, Sacch. Kefir und einer Milchzuckerhefe Nr. 102. Auf einer Mineralsalznährlösung, welche Laktoseureid als einzige Kohlenstoffquelle enthielt, gediehen Mucor javanicus und Aspergillus niger unter Verbrauch des Galaktoseanteils und Zurücklassung des Glukoseureids. Maltoseureid wird durch verflüssigte untergärige Hefe in Traubenzucker und Glukoseureid gespalten. Lebender Mucor javanicus wächst auf einer maltosehaltigen Nährlösung ebenfalls unter Zerlegung des Ureids in Glukose und Glukoseureid. R. Koch (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Groß, M., Tähtsamad pärmi infektsiooni allikad moie piimatalitistes. [Die wichtigsten Hefeinfektionsquellen in den Molkereien.] (Äratrükk: Ajakirjast „Piimandus". Nr. 6 ja 7. 1931. Tallinas 1931.) [Estnisch m. dtsch. Zusammenfass.]

8 verschiedene Buttereien aus der Umgebung von Dorpat wurden während der Monate Mai—September laufend auf die Hefeinfektionsquellen untersucht.

Dabei zeigte sich, daß 23,5% der Säurewecker, 47,4% des Süßrahms, 76,3% des Sauerrahms und 17,2% des Butterwaschwassers mit mehr als 10 Hefen pro 1 ccm infiziert waren. Durch das Butterfaß wurde der Rahm in 84,6% der Fälle mit mehr als 10 Hefekeimen infiziert. Als wichtigste Hefeinfektionsquellen wurden das Butterfaß und die Rahmreifungswanne festgestellt. Die Reinigung des Butterfasses war durchweg ungenügend, meist wurde es nach Betrieb mit heißem, oft nur mit lauwarmem Wasser gewaschen (nur in einem Fall wurde das Wasser im Faß mit Dampf zum Kochen gebracht), dazu 1—2 mal wöchentlich Behandlung mit Kalkmilch. Am nächsten Morgen vor der Butterung wurde das Innere des Fasses in der Regel nur mit kaltem, in einigen Fällen zuerst mit heißem, dann erst mit kaltem Wasser ausgespritzt. Es

wird vorgeschlagen, zur direkten Bekämpfung der Hefeinfektion eine gründlichere Heißwasser- oder Dampfbehandlung der Butterfässer durchzuführen, sowie als Anreizmittel im Sinne einer besseren Buttererzeugung Veranstaltungen nach der Art des in Kanada eingeführten „Schimmel- und Hefekeimzahl-Wettbewerbes“ (mould and yeast contests) einzuführen.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Groß, M. und Hindrikson, J., Voipesu-ja karastusvee steriliseerimise katsed caporidi ja kloorlubjaga. [Die Entkeimungsversuche des Butterwaschwassers mit Caporit und Chlorkalk.] (Mitt. d. Milchwirtschaftl. Kabinetts d. Univ. Dorpat in Estland. Nr. 4.) [Estnisch m. dtsch. Zusammenf.] (Sonderabdruck a. d. Ztschr. „Agronoomia“. Jahrg. 1933. Nr. 3. S. 1—8.)

Zur Entkeimung von 100 l Waschwasser genügten 0,3—0,5 g Caporit oder 0,6—1,0 g Chlorkalk bei einer Einwirkungszeit von 2 Std. Nach dieser Zeit fanden sich im Wasser keine gelatineverflüssigenden Bakterien mehr, selbst wenn dieses reich an organischen Stoffen war. Zur Feststellung eines evtl. ungünstigen Einflusses auf Geschmack, Geruch und Haltbarkeit der Butter wurde in vergleichenden Versuchen ein Teil der Versuchsbutter im Klümpchenzustande mit chloriertem Wasser, der andere Teil mit keimarmem Leitungswasser oder autoklaviertem Wasser gewaschen. Es zeigte sich, daß dem Butterwaschwasser Caporit in einer Menge von 1% und Chlorkalk in einer Menge von 1,5% zugefügt werden konnten, ohne daß ein ungünstiger Einfluß auf die Versuchsbutter ausgeübt wurde. Chlor konnte in dem fettfreien Teil der frischen Versuchsbutter in keinem Falle mehr nachgewiesen werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Gistl, R., Erdalgen und Düngung. Erdalgen und Anionen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 348—378.)

Verf. untersuchte die Algenflora eines 13jährigen Düngungsversuches auf oberbayrischem Grünland. Das Verhältnis der verschiedenen Algengruppen ist ein ganz anderes auf den verschieden gedüngten Parzellen. Die Algenflora ist um so artenreicher, je besser der Boden gedüngt ist (9 Arten bei ungedüngt gegen 43 bei Volldüngung, die Teildüngungen stehen in der Mitte). Auch die Dichte des Bestandes ist im gedüngten Boden höher, bei Volldüngung 26mal höher als bei ungedüngt.

In größerer Tiefe (6 cm) ist der Boden ärmer an Arten und Individuen verglichen mit der obersten Schicht; die Verschiedenheit verschieden gedüngter Böden wird geringer. Die Algen befinden sich auch in der Tiefe in vegetativem Zustande.

Weiter untersuchte Verf. die Wirkung der als Natriumsalz gegebenen Anionen Rhodanid, Chlorid, Sulfat und Phosphat durch Einimpfen von Boden in entsprechende Nährlösungen und Feststellung der sich entwickelnden Algen. Es zeigte sich, daß die Algen dadurch ganz verschieden beeinflußt wurden. Ganz besonders tritt dies bei dem Rhodanid in Erscheinung: Diatomeen sind ziemlich empfindlich, ganz besonders stark aber Cyanophyceen, woraus Verf. im Sinne des Boasschen Anionen-Phänomens auf gewisse verwandtschaftliche Beziehungen zwischen Cyanophyceen und den ebenfalls äußerst rhodanempfindlichen Bakterien schließt.

Alle Feststellungen werden durch genaue Listen der jeweils aufgefundenen Arten belegt. Einzelheiten müssen im Original nachgesehen werden.

Rippel (Göttingen).

Winogradsky, S. (et **Winogradsky, H.**), Études sur la microbiologie du sol. (Ann. Inst. Pasteur. T. 50. 1933. No. 3. p. 350—432.)

Nach Meinung des Verf.s finden sich seine grundlegenden Arbeiten über die Salpeterbakterien des Bodens nach wie vor bestätigt. Die seither erschienenen einschlägigen Arbeiten bringen nach Ansicht des Verf.s teils nichts Neues resp. keinen gültigen Ersatz bisheriger Methoden, teils liegen ihnen technische Fehler zugrunde, vornehmlich was die Feststellung anderer Autoren anlangt, wonach heterotrophe Organismen zur Nitratbildung befähigt seien. — Es wird eine neue Kulturmethode beschrieben, bei welcher Silicogel-Platten, überzogen mit basischen Karbonaten und mit Kaolin, benutzt werden. Die Methode gestattet exakte Trennung und Isolierung der einzelnen Stämme von Nitrosomonas, Nitrosocystis und Nitrosospira; von dieser werden 2, von Nitrosocystis 2 und von Nitrosomonas 5 Stämme beschrieben. Bezüglich der physiologischen Leistungsfähigkeit steht an der Spitze Nitrosomonas; es folgt Nitrosocystis und schließlich Nitrosospira. Der erforderliche pH-Wert liegt optimal zwischen 6,0 und 9,2; unterhalb 6,0 sinkt die Leistung sofort bis zum völligen Erlöschen ab. — Das Vorkommen der genannten 3 Species beschreibt Verf. wie folgt: Nitrosomonas findet sich im allgemeinen in fertilen Böden, in fruchtbarem Schlamm und in Komposterde; Nitrosocystis bevorzugt Waldböden; Nitrosospira lebt hauptsächlich in dürren und unkultivierten Böden. — Schließlich beschreibt Verf. noch eine Methode zur Messung der Nitrifikationskraft des Bodens (Zählverfahren).

Limbach (Leipzig).

Greaves, J. D., The Microflora of a rich sulphate containing soil. (Journ. Agric. Res. Vol. 42. 1931. p. 183 ff.)

In einem an Na-Sulfat überreichen Boden, auf dem infolge des übermäßig hohen Salzgehaltes kaum noch Pflanzen existieren konnten, wurden 13 Stäbchenformen, 2 Coccus-Spezies sowie 6 Pilzarten gefunden. Auch stickstoffbindende Organismen konnten festgestellt werden, die z. T. in mit 1% Mannit versetzten Böden sogar 4 mg N pro g Mannit banden.

Limbach (Leipzig).

Kibbin, R. R., and **Gray, P. H. H.**, Chemical and microbiological factors in some Quebec soils. (Canadian Journ. of Research. Vol. 7. 1932. p. 300—327.)

Bei Böden und Untergrund zahlreicher Orte in der Provinz Quebec waren neben chemischen Bestimmungen, auch biologische durchgeführt worden. Es wird nicht die Jahreszeit, sondern der Bodentypus als überwiegender Faktor hinsichtlich der Anzahl von Bakterien und Aktinomyzeten angesehen; es ergeben sich hierzu genug und klare Unterscheidungen, z. B. zwischen schweren Lehmböden und podsolierten Böden des Hochlands bzw. Flachlandes. Die Schimmelpilze zeigten aber nicht dieselben Beziehungen: im Untergrund fehlten bisweilen die Pilze gänzlich. Der NO_3-N-Gehalt war in der ganzen Reihe origineller Bodenproben gering oder fast Null, jedoch war die Nitrifikation im Laboratorium lebhaft, aber von veränderlicher Größe. Bei CO_2-Entwicklung waren Verschiedenheiten der Böden nicht bemerkbar.

Das Verhältnis MgO : CaO wurde bei dem Podsol des Hochlands merklich höher gefunden, als bei irgendeiner anderen Gruppe dieser Gegend, weshalb Verff. eine wichtige Rolle des Mg in diesen Böden annehmen. C : N wurde von 5—65 gefunden. Es ergeben sich vom bodenchemischen Standpunkt noch mehrere interessante Beziehungen. Nicol (Rothamsted).

Gray, P. H. H., and McMaster, N. B., A microbiological study of podsol soil profiles. (Canadian Journ. of Research. Vol. 8. 1933. p. 375—389.)

Mikrobiologische Studien an Proben aus verschiedenen Horizonten, auch von regelmäßig steigenden Tiefen, bei Böden der Gruppe (Kanadisch) Apalachensche Podsole, zeigten, daß die Tätigkeit der Mikroorganismen vom Gehalt resp. der Menge organischer Stoffe abhängig ist. Biologisch war der Humus-Horizont am wirksamsten, wie Verff. nach Analysen auf CO_2, NO_3-N, Bakterienzahl, und Entwicklung von NH_3 aus Harnstoff, entscheiden konnten. Eine solche verminderte Tätigkeit in ausgelaugten Schichten sowie Akkumulations-Horizonten darf nach Verff. keineswegs giftwirkenden Verbindungen (die durch Auslaugung von Humusstoffen erzeugt werden sollen) zugeschrieben werden. Nicol (Rothamsted).

De'Rossi, G., La nitrification dans le terrain par simple action physico-chimique. (Soc. Intern. Di. Microbiol., Boll. della Soz. Ital. Vol. 5. 1933. p. 132—136.)

Verf. führt den Beweis, daß neben einer durch Bakterien verursachten Nitrifikation in der obersten Bodenschicht auch eine solche stattfindet, die auf eine rein physiko-chemische Ursache zurückzuführen ist. Die Intensität dieser Nitrifikation steigt nämlich mit der Temperatur bis etwa 80° C und findet noch in Erde statt, die bei 160—170° C sterilisiert worden ist. Auch der Einwand, daß es sich hierbei um die Festlegung von Nitrit und Nitrat der Luft handeln könnte, wird durch entsprechende Versuche entkräftet. Bortels (Berlin-Dahlem).

Pangalos, G. E., Le lac artificiel de Marathon et son eau. (Revue d'Hyg. T. 55. 1933. p. 24—31.)

Das für die Stadt Athen benötigte Wasser wird einem bei Marathon angelegten, künstlichen Stausee entnommen, der vollkommen klares, geruch- und farbloses Wasser führt. Die bakteriologische Untersuchung ergab: 350 000 aerobe Keime je ccm, 100 Coli-Keime je ccm (Probe aus 30 m Tiefe entnommen). Nitrite, Nitrate und freies Ammoniak fanden sich nur in Spuren. Nach der Entkeimung des Wassers (Zusatz einer 2—5 proz. Alaunlösung, Kiesfiltration, Chlorzusatz) fand man pro ccm 380 Aerobenkeime, keine Coli. Limbach (Leipzig).

Koschkin, M. L., Die Bedeutung des Ammoniaks für das Chlorbindungsvermögen des Wassers. II. Mitt. Zur Frage des Wirkungsmechanismus des Chlors mit Praeammonisation. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 99—109.)

Ammoniak, das dem Wasser vor dem Chlor beigefügt wird, setzt das Chlorbindungsvermögen des Wassers um das Mehrfache herab und steigert die bakterizide Wirkung des Chlors. Bei gleichzeitigem oder nachfolgendem

Zusatz von Ammoniak ist das Chlorbindungsvermögen größer und die bakterizide Wirkung des Chlors geringer. Die gesteigerte Bakterizidie des Chlors ist nicht durch Bildung von Chloramin erklärbar, sondern durch die Abnahme des Chlorbindungsvermögens infolge Verbindung des zugesetzten Ammoniaks mit im Wasser befindlichen Substanzen, die dadurch ihre Fähigkeit eingebüßt haben, Chlor zu binden. Besonders wirkungsvoll ist der Ammoniakzusatz zu phenolhaltigem Wasser vor dem Chlorieren; denn es verhindert die Bildung von Apothekengeruch und -geschmack. Näheres über die Methodik der Chlorbedarf-Bestimmung für die Präammonisationsmethode, die mit wesentlich geringeren Chlormengen als den üblichen arbeitet, im Original. Rodenkirchen (Duisburg).

Nitsche, P., Klärung von Abwässern mit kolloid gelösten, faulfähigen organischen Stoffen. (Gesundheitsing. 1933. S. 21—22.)

Kolloidal gelöste faulfähige Stoffe lassen sich erfahrungsgemäß aus gewerblichen Abwässern mittels biologischer oder chemischer Verfahren nur schwer entfernen. Setzt man jedoch Oxydantia zu und fügt dann einen Elektrolyten bei, so erfolgt die vordem nicht erreichte Ausflockung sogleich, da nunmehr der Potentialunterschied zwischen Kolloid und Elektrolyt entsprechend groß ist. Die Bakterientätigkeit wird durch den geschilderten Prozeß nicht unterbunden; es kann eine weitere biologische oder mechanische Reinigung des vorbehandelten Abwassers angeschlossen werden.

Limbach (Leipzig).

Damm, H., Über die Gefahr des Einleitens von Molken in biologische Kläranlagen und Prüfung der Fäulnisfähigkeit von Abwasser mit einfachen Hilfsmitteln. (Milchwirtschaftl. Ztg. 1933. Jahrg. 38. S. 719—721.)

Da die direkte Ableitung der in manchen Fällen nicht verwertbaren Molken in den Vorfluter nur in seltenen Fällen möglich ist, vielmehr von den zuständigen Stellen erst in vorgeklärtem und fäulnisunfähigem Zustande gestattet wird, ist die Möglichkeit, sich selber ein Bild von dem Zustande des molkenhaltigen Abwassers der Molkerei zu machen, sehr wertvoll. Man braucht dazu nur 200 ccm des Abwassers, so wie es in den Vorfluter eintritt, in einem 200 ccm fassenden Medizinglas mit unter den Pfropfen eingeklemmtem Bleiazetat-Papier bei etwa 22° C 10 Tage stehenzulassen. Ist nach dieser Zeit das Papier schwarz gefärbt, so hat sich durch Eiweißzersetzung Schwefelwasserstoff gebildet und das Abwasser befindet sich noch in faulfähigem Zustande, es darf also nicht abgeleitet werden. Nicht mehr faulfähiges Wasser läßt den Bleiazetat-Papierstreifen unverändert weiß.

H. Mossel (Weihenstephan).

Fries, F., Die Abhängigkeit der Schlammfaulung von der Temperatur. (Gesundheitsing. 1933. S. 55—57.)

Verf. fand den Ablauf der Methangärung und die Ausbeute an Methangas hauptsächlich durch die Einhaltung einer entsprechenden, optimalen Temperatur in den Faulkammern bedingt. Die Umschaufelung des Abwasserschlammes mittels Schraubenschauflern erwies sich als negativ in bezug auf Steigerung der Gasausbeute. Limbach (Leipzig).

Goldie, H., Sort des microbes pathogènes dans les eaux d'égout. Étude du phénomène de bactériolyse. (Revue d'Hyg. T. 55. 1933. p. 5—23.)

Die Untersuchungen ergaben: Beim Übertritt in ein hypotonisches Medium wird die Lebenstätigkeit pathogener Keime behindert, ebenso durch Anwesenheit von Saprophyten und durch Nährstoffmangel. Bei Vorhandensein dieser Faktoren erfolgt Autolyse resp. Heterolyse, begünstigt durch Bakteriophagen; schließlich werden gewisse Arten in widerstandsfähigere Formen übergeführt. Deren Bildung unterbleibt bei Anwendung des Belebtschlammverfahrens infolge der hier auftretenden Zersetzung von Proteinen und Lipoiden. Limbach (Leipzig).

Mikrobiologie von Kohle usw.

Turner, H. G., Bacteria in Pensylvania anthracite. (Science. Vol. 76. 1932. p. 121—122.)

Die Behauptung C. B. Lipmans, er habe in Kohlenflözen lebende, im Ruhestadium sich befindende, viele Millionen Jahre alte Bakterien gefunden, wird einer Kritik unterzogen. Demnach hat Lipman einige Möglichkeiten wie z. B. das Einsickern des Wassers von der Erdoberfläche durch Spalten bis in sehr tiefe Schichten nicht genügend berücksichtigt, so daß die Behauptung vom Alter dieser Bakterien sowie andere Schlußfolgerungen, die von anderer Seite aus den Feststellungen Lipmans gezogen worden sind, zumindest sehr zweifelhaft erscheinen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Lieske, R., Über das Vorkommen von Bakterien in Kohlenflözen. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 339—351.)

Nicht nur in poröser Braunkohle, sondern auch in sehr dichten Steinkohlen sind vom Verf. entwicklungsfähige Bakterien gefunden worden. Die Porosität der Kohle steht in keinem direkten Zusammenhang mit dem Bakteriengehalt. Die Flora der Kohle besteht aus gänzlich andersartigen Organismen als diejenige der umgebenden Grubenluft. Da die Keime aus der Luft nicht ins Innere der Kohle eindringen können, ist mit Sicherheit anzunehmen, daß sie bereits in den unberührten Flözen vorhanden sind. Als typisch für die Steinkohle sind neben grampositiven Kokken besonders sog. „Kokkobazillen" anzusprechen, welche nach Ansicht des Verf.s als modifizierte Vertreter der Mesentericus-Gruppe anzusehen sind. Die anfangs kurzen, fast kokkenartigen Stäbchen ließen sich durch längere Züchtung in geeigneten Nährböden in normale Stäbchen mit Sporenbildungsvermögen umwandeln. R. Koch (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Hey, A., Die Diagnose des Abbaugrades von Kartoffelknollen durch elektrometrische Messung. (Arb. Biol. Reichsanst. Bd. 20. 1932. S. 79—90, 6 Abb.)

Bei allen Abbauversuchen war bisher Sicherheit über den Gesundheitszustand des Ausgangsmaterials schwer zu erlangen. Verf. fand, daß der Potentialwert einer Kartoffelknolle in direkter Beziehung zu ihrer Vitalität steht. Knollen mit einem Potentialwert zwischen Ec 80 mV und 150 mV ergaben gesunde Stauden. Zwischen 150 und 190 mVolt liegt eine kritische Zone, höhere Werte ergeben Abbaupflanzen. Riehm (Berlin-Dahlem).

Jager, H. de, Ziekteverschijnselen van enkele cultuurgewassen als gevolg van de inwerking van keuken-

zout. [Krankheitserscheinungen einiger Kulturgewächse als Folge einer Einwirkung von Kochsalz.] Dissertation. 81 S., mit mehreren phot. Abb. Baarn (Hollandia Drukkerij) 1933.

Verf. untersuchte den Einfluß erhöhter Kochsalzkonzentration auf Kulturgewächse wie Weizen, Raps, Erbsen und Tabak. Die zeitige Erkennung der Ursache dieser Schädigungen an dem dabei auftretenden Krankheitsbild kann insofern wichtig sein, als die Trockenlegung der Zuidersee weite Gebiete erzeugt, wo der Boden größere Mengen Kochsalz enthält. Indessen stellte sich heraus, daß außer Kochsalz auch andere Salze wie Natriumnitrat, Natriumsulfat, Chlorkalium und Chlorkalzium ähnliche Krankheitserscheinungen verursachen können. Aus den Versuchen geht weiter hervor, daß weder dem Na-Ion noch dem Cl-Ion eine besondere schädliche Wirkung zugeschrieben werden darf. Bei dem Studium der Einwirkung verschiedener Ionen auf den Pflanzenorganismus spielt der Ionenantagonismus eine große Rolle, dessen Wirkung jedoch noch nicht völlig geklärt ist.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Trenkle, Giebelhausen, Gorgon und Mentzel, Über das Bluten der Apfelbäume. (Prakt. Ratgeber Obst- u. Gartenbau. Bd. 48. 1933. S. 80.)

Besonders im Sommer 1929 und 1930 machte sich vielerwärts an Apfelbäumen ein abnormes Bluten sowohl an Schnittflächen der Äste wie an schadhaften Stellen der Stämme bemerkbar. Als Ursache werden erhöhter Saftdruck im Verein mit Frostwirkungen des kalten Winters 1928/29 angesehen.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Lauritzen, J. I., Harter, L. L., and Whitney, W. A., Environmental factors in relation to snap-bean diseases occuring in shipment. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 411—445, 4 figs.)

Verff. geben zunächst in 2 Tabellen eine Übersicht über untersuchte Bohnenproben aus den einzelnen Staaten und den Anteil der einzelnen Krankheiten an der Gesamtzahl der untersuchten Proben. Sie berichten dann über den Einfluß von Außenfaktoren auf das Auftreten von Krankheiten an Bohnen während des Transportes und der Lagerung. Colletotrichum lindemuthianum befällt sowohl beschädigte als auch unbeschädigte Bohnen, wenn diese mit einer Sporensuspension bespritzt werden. Bei der Nadelinfektion zeigten sich Infektion bei 8—33° C bei Bespritzen mit einer Sporensuspension bei 7—27° C. Das Temperaturoptimum lag bei 22—25° C. Die Infektion wurde sichtbar bei 22—27° C nach 5 Tagen, bei 15,5—17,5° C nach 7, bei 12° C nach 9, bei 10° C nach 12 und bei 7° C nach 14 Tagen. Die Sporen unmittelbar von Bohnen erwiesen sich als virulenter als die Kulturen.

Infektionen mit Bacterium phaseoli gelangen nur bei Nadelinfektionen und zwar bei Temperaturen von 2—31° C.

Infektionen mit Sclerotinia sclerotiorum waren erfolgreich bei 0—28° C. Die erste Infektion wurde bei 12° C nach 4, bei 8° C nach 6, bei 5,5° C nach 9, bei 1,8—2° C nach 11 und bei 0° C nach 15 Tagen beobachtet.

Infektionen mit Pythium butleri zeigten sich bei Temperaturen von 12—35,6° C.

Rhizoctonia solani infizierte bei 0,9—35,5° C.

Infektionen mit Sclerotium rolfsii wurden bei Temperaturen von 8—35,6° C erhalten. Rhizopus tritici und R. nigricans zeigten sich auch ohne künstliche Infektion, so daß bald die Bohnen Temperaturen von über 30° C ausgesetzt waren. Künstliche Infektionen gelangen bei 12—35,5° C. Botrytis cinerea infizierte bei 0—35,5° C. Aus den Versuchen ergab sich, daß eine Wertminderung bei Bohnen durch Mikroorganismen sehr schnell bei Temperaturen über 20° C einsetzte. Bei Verschiffung von Bohnen von Florida nach Washington blieben sie bei 6—7° C 4—15 Tage, unter 6° C 6—15 Tage gut. Es ist daher wünschenswert, daß die Bohnen beim Transport bei Temperaturen unter 10° C gehalten werden, noch besser sind Temperaturen nahe dem Gefrierpunkt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Jochems, S. C. J., Ziekten der Tabak (Krankheiten des Tabaks) in: „Overzicht van de Ziekten en Plagen der Deli-Tabak in het Jaar 1932." (Meded. v. h. Proefstation te Medan-Sumatra, Tweede Serie, No. 83.)

Es wurden folgende Krankheiten im Jahre 1932 in Deli festgestellt:

a) durch Bakterien verursacht. Schleimkrankheit (Bact. solanacearum E. F. S.). Diese ist von allen Tabak-Krankheiten mit die schlimmste. Infolge der günstigen Klimafaktoren wurde aber nur in 11% der beobachteten Fällen ein Befall von 20% oder darüber festgestellt. Schwarzer Rost (Bact. pseudozoogloeae Honing) kam vielfach vor. Gipfelfäule (Bact. aroideae Townsend) verursachte nur wenig Schaden.

b) durch Pilze verursacht. Die „Bibit"-Krankheit (Phyt. nicotiana v. Br. d. H.) der Saatbeete hatte keine große Bedeutung. Stengelbrand (Phyt. spec. div.) hatte ebenfalls im allgemeinen keine große Bedeutung. Wo derselbe aber auftrat, war der Schaden ziemlich groß, variierend von 5—75% der Anpflanzungen. „Spikkel" (Tüpfel) (Cercospora nicotianae Ell. et Ev.) trat weniger zahlreich auf als in den vorhergehenden Jahren. Aus einer Umfrage an sämtliche Pflanzer konnte festgestellt werden, daß im allgemeinen die Tabakpflanzen auf humusreichen Böden am meisten anfällig sind, während dagegen die alluvialen Böden auffällig wenig darunter zu leiden haben. Was die klimatologischen Einflüsse anbetrifft, wurde beobachtet, daß die Cercospora-Krankheit am meisten zunimmt, wenn nach längerer Trockenperiode eine Regenzeit einsetzt.

c) Viruskrankheiten. In der Hauptsache Mosaikkrankheit und Rotterdam B-Krankheit. Erstere ist von größter Bedeutung auf alluvialen Böden, wo jedoch in diesem Jahre der Befall sehr variierte. Sie wurde 41 mal gemeldet, dagegen die Rotterdam B-Krankheit 17 mal.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Bunschoten, Gerharda, Invloed van de voeding op de virulentie van schimmels. [Einfluß der Ernährung auf die Virulenz der Pilze.] Dissertation. 56 S., mit phot. Abb. und Tab. Baarn (Hollandia Drukkerij) 1933.

Verf.n untersuchte, inwieweit fortgesetzte Kultur parasitischer Pilze auf künstlichen Nährböden die Virulenz derselben herabsetzt. Zu dem Zwecke wurden Versuche angestellt mit Sclerotium sclerotiorum (Lib.) Massee und Rhizoctonia solani Kühn, und zwar auf Tomaten- und Rübenkeimlingen. Für Sclerotinia sclerotiorum

wurde gefunden, daß, bei Saccharose als C-Quelle, die Virulenz am größten ist bei Verwendung von Ammonverbindungen als N-Quelle, weniger stark mit Kaliumnitrat und organischen N-Verbindungen wie Harnstoff, Asparagin u. a. Als Kohlehydratquelle bewähren sich die meisten Zuckerarten sowie Dextrin; geringe Virulenz ergeben Zellulose, Gummi arabicum und lösliche Stärke. Ältere Kulturen sind im allgemeinen weniger virulent wie jüngere, durch Anhäufung von Ammoniak. Bei Pepton-Nährböden kann diese Anhäufung durch größere Rohrzuckergaben behoben werden. Auf natürlichen Nährböden behält der Pilz seine Virulenz längere Zeit bei. Fortgesetzte Kultur auf demselben Nährboden beeinträchtigt die Virulenz jedoch im allgemeinen erheblich.

Für Rhizoctonia tritt ein Einfluß des Nährbodens viel weniger hervor. Obwohl auch hier ältere Kulturen gegen jüngere zurückstehen, ist die Zusammensetzung des Nährbodens von geringem Einfluß auf die Virulenz.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Wolf, F. F., The pathology of tobacco black shank. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 605—612, 1 fig.)

Als Ursache für das schnelle Welken und Zerfallen von Tabakpflanzen, die mit Phytophthora nicotianae infiziert waren, konnte Verf. durch seine Untersuchungen ein Gift feststellen. Dieses ist hitzebeständig und nicht flüchtig. Bei der Zersetzung des Gewebes und auch in Kultur werden Säuren gebildet, die aber kein Welken und Zerfallen der Pflanzen verursachen. Phytophthora nicotianae scheidet Enzyme aus, die in der Lage sind, die Mittellamelle, Sekundärmembranen, Stärke, Rohrzucker, Dextrose und Maltose auszunutzen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Moritz, O., Weitere Studien über die Ophiobolose des Weizens. (Arb. Biol. Reichsanst. Bd. 20. 1932. S. 27—48, 11 Abb.)

Ophiobolus graminis ist zwar ein gefährlicher Parasit, kann aber Pflanzen, die auf gut bearbeiteten typischem Weizenboden stehen, nichts anhaben. Außer physikalisch-chemischen (adsorptiven) Kräften sind es auch biologische Faktoren, die in normalem Weizenboden, Infektionen durch Ophiobolus verhindern. Verf. bestätigt also die Ergebnisse von Sanford und Broadfoot. 3 Stämme von Oph. graminis unterschieden sich in ihrer Virulenz. Riehm (Berlin-Dahlem).

Stolze, K. V., Beitrag zur Biologie, Epidemiologie und Bekämpfung der Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe (Cercospora beticola Sacc.). (Arb. Biol. Reichsanst. Bd. 19. 1931. S. 337—402.)

Die verschiedenen Formen von C. beticola zeigten nur auf künstlichen Nährböden Unterschiede, nicht auf dem Rübenblatt. Versuche bestätigten die Übertragbarkeit der Krankheit mit dem Saatgut; auch an flach mit Erde bedeckten Ernterückständen kann der Pilz überwintern. Die Inkubationsdauer schwankt zwischen 6 Tagen bei 21° C und 50 Tagen bei Temperaturen unter 15° C. Hieraus erklärt es sich, daß die bis Ende Mai gebildeten, kurzlebigen Blätter keine Blattflecken aufweisen. Epidemien treten bei Wärme und Feuchtigkeit auf, weil nur dann massenhaft Konidien gebildet werden. Durch dreimaliges Spritzen oder Stäuben mit kupferhaltigen Mitteln von Ende Juli bis Ende August kann die Krankheit stark eingeschränkt werden. In Deutschland lohnt sich die Bekämpfung nicht.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Voorhees, R. K., Gibberella moniliformis on corn. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 368—378, 3 figs.)

Gibberella moniliformis verursacht an Mais in Florida schätzungsweise einen Schaden von 5%. Verf. beschreibt eingehend die Krankheitssymptome und berichtet dann über seine Untersuchungen über die Morphologie des Erregers. Die Mirkokonidien von G. moniliformis keimen in Wasser bei 11—35° C. Das Temperaturoptimum liegt bei 30° C. In Reinkultur auf Kartoffel-Dextrose-Agar wuchs das Myzel zwischen 10 und 39° C. Die optimale Temperatur betrug etwa 30° C. Wachstum zeigte sich bei ph 2,1, sehr gut war das Wachstum bei ph 8,1. Wenn die Wurzeln und das Mesokotyl von Maissämlingen, die in sterilem Boden gewachsen waren, mit G. moniliformis infiziert wurden, starben die Pflanzen entweder ab oder sie wurden im Wachstum stark gehemmt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Jenkins, A. E., Application of the terms "anthracnose" and "scab" to plant diseases caused by Sphaceloma and Gloeosporium. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 389—395, 1 fig.)

Die Bezeichnung „anthracnose" (Schwarzer Brenner) wurde ursprünglich für die durch Sphaceloma ampelinum verursachte Rebenkrankheit angewendet. Später wurden auch andere durch Elsinoe, Sphaceloma, Gloeosporium und Colletotrichum verursachte so bezeichnet. Teilweise wurden aber die durch diese Pilze hervorgerufenen Krankheiten auch „scab" (Schorf) genannt. Verf. schlägt vor, in Zukunft solche Krankheiten, bei denen eingefallene Flecken auftreten, als „anthracnose", und solche, bei denen erhöhte Flecken auftreten, als „scab" zu bezeichnen. Als Typ der „Anthraknose" wird die Brennfleckenkrankheit der Bohne, als Typ für „Schorf" (scab) der Schorf von Citrus angegeben.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Greaney, F. J., and Machacek, J. E., The production of a white fertile saltant of Helminthosporium sativum by means of ultra-violet radiation. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 379—383, 2 figs.)

Durch Bestrahlen mit ultravioletten Strahlen 4 Min. lang an 3 aufeinanderfolgenden Tagen zeigten sich bei Helminthosporium sativum vielfach Mutanten und zwar war die Zahl größer, wenn die Strahlen zunächst durch Vitaglas gingen, als wenn sich die Kulturen unter gewöhnlichem Glas befanden. Bei einem Stamm von Helminthosporium sativum wurde durch die Bestrahlung ein Mutant erzeugt, der sich von dem Ausgangsstamm durch hyalines Myzel und farblose Konidien unterschied. Hinsichtlich der Pathogenität unterschied er sich aber nicht wesentlich vom Ausgangsstamm.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Peltier, G. L., Physiologic forms of wheat stem rust in Kansas and Nebraska. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 343—356, 2 figs.)

Verf. berichtet über Versuche in den Jahren 1928—1930 über das Erscheinen, die Stärke des Auftretens und die Verteilung und das Vorkommen von physiologischen Formen von Puccinia graminis tritici in Kansas und Nebraska. Die Infektion von der Berberitze aus spielt in den beiden Staaten nur eine sehr untergeordnete Rolle. Die Uredosporen

werden anscheinend aus dem Süden nach Kansas und Nebraska gebracht. Die Zeit und die Stärke des Auftretens sowie die regionale Verteilung der ersten Infektionen hängt von den herrschenden Umweltfaktoren ab. Eine genauere Untersuchung der Frage der Übertragung der Uredosporen aus dem Süden durch den Wind ist jedoch so lange nicht möglich, als in Kansas und Nebraska und in den Nachbarstaaten die Berberitze noch nicht ganz ausgerottet ist. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Lindgren, R. M., Field observations of needle rusts of spruce in Minnesota. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 613—616.)

Ein Tannennadelrost trat in epidemischer Form im Sommer 1927 in Minnesota auf. Als anfällig erwiesen sich Picea mariana, P. pungens, als mäßig anfällig P. glauca, als resistent P. glauca albertiana und P. excelsa. Bei stark befallenen Bäumen wurden $\frac{1}{4}$—$\frac{3}{4}$ der jungen Nadeln abgeworfen. Ein Absterben oder dauernde Verkrüppelung von befallenen Bäumen wurde nicht beobachtet. Laboratoriums- und Feldversuche mit dem Uredo-Stadium des Erregers an Heidekraut zeigten, daß Melampsoropsis cassandrae allgemein, M. abietina fast allgemein, M. ledicola nur sehr wenig verbreitet ist.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bresman, E. N., and Brass, H. P., Experiments with head smut of corn in western Oregon. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 396—403, 1 fig.)

Sorosporium reilianum an Mais tritt in einigen Gegenden West Oregons auf. Verff. konnten nachweisen, daß z. T. die Krankheit durch das Saatgut übertragen wird. In diesem Falle ist eine Bekämpfung durch Saatgutbehandlung möglich. Soweit jedoch die Infektion vom Boden aus erfolgte, war Saatgutbehandlung und Bodendesinfektion ohne Erfolg.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Buisman, Christine, Verslag van de onderzoekingen over de iepenziekte, verricht in het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten" te Baarn gedurende 1932 (I.). [Bericht über die im Phytop. Lab. W. C. S. ausgeführten Untersuchungen über die Ulmenkrankheit während 1932 (I.).] (Tijdschr. Plantenz. Heft 4, April 1932. S. 77—94.)

Die Untersuchungen wurden im Sinne der im Bericht vom Jahre 1931 angegebenen Richtlinien fortgesetzt. Die Infektionsversuche an europäischen Ulmenarten wurden fortgeführt. Zum größten Teil sind dieselben für die Krankheit anfällig, einige dagegen zeigten eine gewisse Widerstandsfähigkeit, nämlich U. foliacea Dampieri, U. foliacea Wredei, U. glabra fastigiata, U. hollandica vegeta, U. procera mon. Rinz, U. procera Berardi. Da es keinen Zweck hat, mit den empfindlichen Arten weiter zu experimentieren, können die Versuche künftig beschränkt werden auf die wenigen Arten, welche auf Grund obiger Infektionsversuche eine gewisse Aussicht auf Erfolg bieten.
van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Weston, W. H., A new Sclerospora from Nyasaland. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 587—595, 2 figs.)

Verf. beschreibt eine Krankheit von Eragrotis aspera, die

sich in einem Bräunen, Welken und schließlichen Zerschlitzen der Blätter äußert. Als Erreger wird Sclerospora Butleri n. sp. beschrieben.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Weber, G. F., Stem canker of Crotolaria spectabilis caused by Diaporthe crotalaria n. sp. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 596—604, 4 figs.)

In Florida wurden auf manchen Feldern zur Zeit der Blüte durch eine Krankheit 30% der Pflanzen von Crotalaria spectabilis abgetötet und 90% der Pflanzen davon befallen. Die Krankheit konnte durch Myzel, Pykno- und Askosporen des Erregers übertragen werden. Das Asci-Stadium wurde durch Infektion von Pflanzen mit dem Imperfekt-Stadium erhalten. Beide Stadien konnten aber auch in Kultur erhalten werden. Das Imperfekt-Stadium wird als Phomopsis crotaloriae n. f. nom., das Asci-Stadium als Diaporthe crotalaria sp. nov. beschrieben. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Eylits, M., Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 343—379, 34 Abb.)

Verf. beschreibt eingehend eine Methode, nach der er mit Hilfe von Thermoelementen die Temperatur in Kartoffelknollen bestimmte. Die Infektion der Knollen mit Bac. phytophthorus rief eine wesentliche Temperatursteigerung hervor, die von erhöhter Kohlensäureabgabe begleitet war. Am stärksten war die Temperaturerhöhung am Infektionsherd, doch wurden alle Gewebeteile der infizierten Knolle in Mitleidenschaft gezogen. Nach einer gewissen Zeit sank die Temperatur wieder. Verf. vermutet, daß die Temperatursteigerung durch toxische, von dem Parasiten ausgeschiedene Stoffe hervorgerufen wird. Riehm (Berlin-Dahlem).

Dufrénoy, J., Die Viruskrankheiten. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 85—90, 6 Abb.)

Mit Hilfe der Superfärbung nach Borrel wies Verf. in mosaikkranken Tabakpflanzen Körperchen nach, die den von Borrel im Gewebe viruskranker Tiere gefundenen gleichen. Die von verschiedenen Verff. als Parasiten beschriebenen Gebilde in mosaikkranken Pflanzen hält Verf. für Mitochondrien. Riehm (Berlin-Dahlem).

Quanjer, H. M. und Silberschmidt, K., Über eine komplexe Viruskrankheit der Tomate. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 75—83, 5 Abb.)

Tomaten wurden mit einem Gemisch von Preßsaft mosaikkranker Tabakblätter und gesund aussehender Blätter der Kartoffelsorte Magdeburger Blaue infiziert; die Pflanzen erkrankten an Strichelnekrose, während Tabakmosaik allein gewöhnliches Tomatenmosaik, Magdeburger Blaue allein eine schwache Fleckung der Blätter hervorrief. Riehm (Berlin-Dahlem).

Hoggan, I. A., Some viruses affecting spinach, and certain aspects of insect transmission. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 446—474, 5 figs.)

Spinat ist für 3 Viruskrankheiten anfällig; Gurkenmosaik, Zuckerrübenmosaik und Tabakringflecken. Das Gurken- und Zuckerrübenmosaikvirus

kann durch Blattläuse und durch künstliche Infektion übertragen werden, während beim Tabak-Ringfleckenvirus nur eine Übertragung durch künstliche Infektion möglich ist. Verf. nimmt an, daß die durch das Gurkenmosaikvirus hervorgerufene und die von McChintock und Smith beschriebene Krankheit identisch sind, während die in Deutschland beobachtete identisch mit der durch das Zuckerrübenmosaikvirus hervorgerufenen ist. Bei Macrosiphum solanifolii konnte eine direkte Übertragung des Gurkenmosaikvirus auf die Nachkommen nicht festgestellt werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Koch, K. L., The nature of potato rugose mosaic. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 319—342, 4 figs.)

Die Untersuchungen des Verf.s haben gezeigt, daß die „rugose-mosaic disease“ durch Zusammenwirken des normalerweise in gesunden Kartoffeln vorhandenen „mottle“ Virus mit dem „veinbanding“ Virus entsteht. Das „ringspot“ Virus kann in dieser Kombination das „mottle“ Virus ersetzen. „Mottle“ und „ring-spot“ Virus konnten durch Blattläuse nicht übertragen werden, während bei dem „veinbanding“ Virus eine Übertragung durch Mycus persicae und Macrosiphum solanifolii möglich war. Durch das verschiedene Verhalten beim Übertragen durch Insekten kann daher das „veinbanding“ Virus von den andern getrennt werden. „Ring-spot“ und „mottle“ Virus können infolge ihrer verschieden schnellen Entwicklung in der Tabakpflanze getrennt werden. Das „veinbanding“ Virus ist gegen Hitze, Chemikalien und gegen Verdünnung wesentlich empfindlicher als die beiden anderen. In vitro hält sich das „veinbanding“ Virus nur 5 Tage, die beiden anderen dagegen 28 Tage. Von amerikanischen Kartoffelsorten erwies sich Rural New Yorker als resistent. Eine Reihe von Solanaceen erwies sich als anfällig für das „veinbanding“ Virus. Die Untersuchung von ausländischen Kartoffeln zeigte, daß in ihnen gleiche oder ähnliche Virusformen wie das „mottle“ und „veinbanding“ Virus vorkommen. Da es aber Sorten und Stämme gibt, die frei von „mottle“ und „ring-spot“ Virus waren, hält Verf. den Anbau solcher Kartoffeln für ein Mittel, um die „rugose mosaic disease“ zu bekämpfen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Kutter, H. und Winterhalter, W. †, Untersuchungen über die Erbsenschädlinge in dem gallischen Rheintale während der Jahre 1931 und 1932. (Landw. Jahrb. Schweiz. Jahrg. 47. 1933. S. 273—338. 60 Abb.)

Im Rheintal bei St. Gallen werden Erbsen im großen für Konservenfabrikation angebaut. Sie werden hauptsächlich von zwei Schädlingen heimgesucht: 1. vom Erbsenblasenfuß, Kakothrips robustus; 2. von der Erbsengallmücke, Contarinia pisi. Der erstere beschädigt durch sein Saugen vor allem die Blüten. Die Früchte werden mißgestaltet und fleckig. Die Gallmücke greift die jungen Triebe an, indem sie die Eier in die Knospen legt. Während der Saftentzug durch den Blasenfuß in den offenen Inflorenszenzen einsetzt, beginnt er bei der Mücke bereits im ersten Knospenstadium. In diesem Falle kommt es in der Regel gar nicht zur Ausbildung von Schoten. Die Blüten sterben ab und ihr Inneres „verjaucht“ oft. Es werden 4 Schlupfwespen genannt, die die Mücke parasitieren. Was die

„Bekämpfungsversuche des Erbsenblasenfußes" betrifft, wie das betr. Kapitel überschrieben ist, so hat sich herausgestellt, daß Insecticide dabei von fraglichem Wert sind. Auch der praktische Wert der Bodendesinfektion zur Vernichtung der nahe der Oberfläche im Boden überwinternden Maden der Gallmücke ist fraglich. Zweckmäßig und in Aussicht genommen ist Verhinderung des schweren Schädlingsbefalls durch Fruchtwechsel, d. h. die Felder sollen nicht länger als 2—3 Jahre hintereinander mit Erbsen bepflanzt werden. K. Friederichs.

Zolk, K., Schädlingskalamität in Estland im Herbst des Jahres 1932. (Mitt. Versuchsanst. angew. Ent. Univ. Tartu. Nr. 23. 1933. 6 Taf.) Estländ. m. dtsch. Zusfassg.

Phyllopertha horticola, der Junikäfer, bei uns als Schädling nicht wesentlich, hat auf 500 ha sandigen Bodens im Nordosten Estlands im Herbst als Engerling die Wintersaaten zusammen mit Melolontha hippocastani und Amphimallus solstitialis arg beschädigt. Wenn eine solche Kalamität zu erwarten ist, so darf Wintersaat nicht auf Kleebrache folgen, da solche von Phyllopertha zur Eiablage bevorzugt wird. Empfohlen wird häufige mechanische Bearbeitung der Brache, auch Vertilgung der Junikäfer durch Bestäubung der Sträucher am Feldrand mit Calciumarsenat. K. Friederichs.

Zolk, K., Der Erdbeerenlaufkäfer und seine Bekämpfung. (Mitt. Versuchsstat. angew. Ent. Univ. Tartu. Nr. 22. 1932. 10 S.) Estländ. m. dtsch. Zusfassg.

Harpalus pubescens gehört in Estland zu den wichtigen Schädlingen der Erdbeere und wird daher als „Erdbeerenlaufkäfer" bezeichnet. Es kommt vor, daß er 70—80%, selbst 95% der Ernte vernichtet. Gewöhnlich ernährt sich der Käfer von Ackerschnecken, Regenwürmern und Insekten [auch Pflanzensamen verschiedener Art. Ref.]. Zur Zeit der Reife der Erdbeeren haben sie es auf die Erdbeerensamen abgesehen, die sie vor dem Verzehren schälen. Sie fressen aber auch tiefe Löcher in das Innere der Erdbeeren. Es werden Mitteilungen über die Entwicklung gemacht. Zur Bekämpfung diente mit Erfolg Phosphorlatwerge (Phosphor emulgiert mit Zucker und Kleister), auf Brettchen gestrichen, die mit der bestrichenen Seite nach unten auf die Erde gelegt wurden. K. Friederichs.

Mac Leod, G. F., Some examples of varietal resistance of plants to insect attacks. (Journ. econ. Entom. Vol. 26 1. 1932 2. p. 62—67.)

Die Reihe der bekanntwerdenden Fälle von Widerstandsfähigkeit bestimmter Formen einer Kulturpflanzenart gegen wichtige Schädlinge mehrt sich. Verf. pflanzte verschiedene Zwiebel- und Selleriesorten in Reihen nebeneinander und zählte die sie befallenden Insekten. Dabei erwiesen sich „süße spanische" Zwiebeln als sehr wenig von Thrips tabaci und grüner oder halbgrüner Sellerie als sehr wenig von Lygus pratensis befallen. Die Ursachen der Widerstandsfähigkeit sind unbekannt.
K. Friederichs.

Van der Meer Mohr, J. C., Overzicht van de plagen van de tabak in Deli. (Meded. Deli Proefstat. 2. Ser. No. LXXXI. Medan 1932. 94 p., 43 pl., 9 fig.)

Eine gemeinverständlich gehaltene Darstellung der Schädlinge des Tabaks in Sumatra, die nicht beschrieben, sondern durch Abbildungen auf

43 Tafeln gekennzeichnet werden. Dazu gehört auch die ökumenisch verbreitete Blattlaus Mycus (Pterodon) persicae, welche nur in Gebieten von über 100 m Seehöhe als häufige Plage vorkommt. Zur Bekämpfung wird das in Sumatra selbst hergestellte „akar toeba" gebraucht, außerdem Venetan. Regelmäßig und überall treten gewisse Raupen schädlich auf. K. Friederichs.

Malenotti, E., Una varietà di Melo resistentè alla Tignola. (Estr. d. Atti dell' Accad. Agric. Sci. Lett. Verona. Ser. V. Vol. 11. 1933. 6 p., 5 fig.)

Bei Entblätterung der Apfelbäume an den Hängen von Lessini in Italien durch die Raupen von Hyponomeuta padellus blieb eine Sorte unbeschädigt, die Verf. beschreibt und „Cavazzese" nennt. Es handelt sich um eine spätblühende Sorte. Auf Grund dieser Beobachtung wird empfohlen, bei Lessini diese Sorte zu bevorzugen und durch Pfropfung zu vermehren. K. Friederichs.

André, M., Contribution à l'étude du Bou-Faroua, Tetranyque nuisible au dattier en Algérie. (Bull. Soc. d'Hist. Nat. de l'Afrique du Nord. T. 23. 1933. p. 301—338, 3 pl., 15 fig.)

Bou-Faroua heißt in Algerien die „Rote Spinne" der Dattelpalme; die wissenschaftlichen Namen — es handelt sich um zwei Arten von Milben — sind Paratetranychus simplex und P. heteronychus. Alle Stadien werden beschrieben und Mitteilungen über Wanderungen, Überwinterung, Lebensdauer gemacht. Auch wird das Fraßbild kurz beschrieben und abgebildet. Die Blätter werden durch den Stich schwarzfleckig und sterben schließlich ab. Verfolgt wird die Milbe von dem Glanzkäfer Cybocephalus seminulum, Neuropterenlarven und Raubmilben. Bekämpfung erfolgt durch wiederholte Bestäubung mit Schwefelblume, gemischt mit Kalkstaub oder Gips. K. Friederichs.

Malenotti, E., Contro le cimici del frumento. (L'Italia Agricola. Ann. 70. 1933. p. 541—580, 35 fig., 1 tav.)

Seit 1931 treten Wanzen (Pentatomiden) am Getreide im westlichen Venetien und in der Lombardei sehr schädlich auf. Der Ernteverlust betrug nicht weniger als 1000 Zentner; dazu kommt die Verminderung der Qualität mehrerer weiterer Tausend Zentner. Es handelt sich um Aelia rostrata und Eurygaster maurus. Die Wanzen saugen an Blättern und Ähren. Bilder zeigen das auf verschiedene Art erfolgende Absammeln der Wanzen. Diese überwintern dort niemals in der Ebene, sondern im Hügel- oder Bergland am Fuße von Grasbüscheln, wo diese hinreichend dicht stehen. Während die Überwinterung eine Zerstreuung der Wanzen über ein größeres Gebiet bedeutet, findet bei dem Aufsuchen der Getreidefelder eine Konzentrierung in Masse daselbst statt. Im Winterquartier können die Schädlinge nicht mit Erfolg eingesammelt werden, auch Bekämpfung mit Insecticiden wäre daselbst undurchführbar. Die Rückwanderung aus dem Gebirge erfolgt wahrscheinlich aus verschiedenen Höhen nicht gleichzeitig und aus größeren Höhen in Etappen. Der einzige wichtige, die Vermehrung der Wanze begrenzende Faktor, den man bis jetzt kennt, ist der parasitische Pilz Botrytis tenella. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 3. November 1933.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 13/16.
Ausgegeben am 20. Dezember 1933.

Experimenteller Beitrag zur Frage der ernährungsbiologischen Wechselbeziehungen zwischen Bakterien und Pilzen.

Erste Mitteilung.

[Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Direktor: Prof. Dr. M. Koernicke.]

Von **Herbert Bucherer**, Bonn.

Mit 1 Tafel (12 Photogrammen).

Erst durch die grundlegenden Arbeiten von Louis Pasteur und Robert Koch, denen wir die Einführung und Anwendung der absoluten Reinkultur von Mikroorganismen in die mikrobiologische Untersuchungsmethodik verdanken, gelang es, die Mikroben von ihren natürlichen Standorten abzutrennen und sie unter künstlichen Bedingungen, welche die natürlichen Standortsverhältnisse weitgehend nachahmen, zu kultivieren. Die Vorteile dieser Reinkultivierung der Mikroorganismen erwiesen sich von größter theoretischer und praktischer Bedeutung, da erst mit ihrer Hilfe ein exaktes Studium der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Mikroorganismen möglich war, wozu man die Mikroben unabhängig von ihren Umweltsbedingungen, wie z. B. Jahreszeit und Witterung, unter willkürlich gewählten Lebensbedingungen züchtete. Auf diese Weise bot die Reinkultur die einzige Möglichkeit, um die vielen Kleinlebewesen zu erforschen, die als Krankheitskeime oder Gärungserreger weit in der Natur verbreitet vorkommen und daher für die Medizin, Gärungstechnik und Landwirtschaft von großer praktischer Bedeutung sind.

Wenn es hiernach auch keinem Zweifel unterliegt, daß diese Art der Untersuchungsmethodik unsere Kenntnisse über die Morphologie, Physiologie und Ökologie auch der für die Landwirtschaft wichtigen Mikroorganismen in hervorragender Weise gefördert hat, so muß demgegenüber doch hervorgehoben werden, daß die absoluten Reinkulturen — infolge ihres „ungewohnten Alleinseins" (Henneberg) — leicht regenerieren und insbesondere bei längerer Kultivierung auf Spezialsubstraten auch sogar charakteristische physiologische Eigenschaften — vorübergehend oder dauernd — annehmen oder verlieren. Dieses interessante Phänomen erscheint verständlich, wenn man bedenkt, daß es sich bei der künstlichen Reinkultivierung der Mikroben doch um eine gewaltsame Abtrennung eines Lebewesens von seinem natürlichen Standorte handelt. So ist es z. B. eine bekannte Tatsache, daß das im Boden weit verbreitete Azotobacter chroococcum bei längerer Züchtung auf künstlichen Nährböden, wie z. B. Mannitagar, häufig sein Vermögen zur Bindung des elementaren Stickstoffs einbüßt, um es möglicherweise erst durch wiederholte Überimpfung auf sterilisierter Erde, die mit einer geeigneten Kohlenstoffquelle,

wie z. B. Mannit, versetzt ist, wieder zu gewinnen. Es ist zweifellos im allgemeinen richtig, daß die Mikroben unter optimalen Lebensbedingungen in Reinkultur besonders gut gedeihen, weil sie von Konkurrenten verschont sind; viele Beobachtungen weisen jedoch gerade auf dem Gebiete der Bodenmikrobiologie darauf hin, daß ein gewisser Antagonismus in dieser oder jener Richtung einen bestimmten Anreiz für die mikrobielle Lebenstätigkeit bildet, wofern nicht überhaupt erst durch das Nebeneinanderleben verschiedener Mikrobenarten ganz besondere Stoffwechselleistungen möglich werden.

Was in dieser Hinsicht insbesondere die Lebensbedingungen der Mikroorganismen im Boden anbetrifft, so muß hervorgehoben werden, daß wir es im Substrate des Ackerbodens nicht mit Reinkulturen, sondern mit einer bunt gemischten Mikroorganismenflora und -fauna, bestehend aus Bakterien, Pilzen, Algen und Protozoen, zu tun haben, welche miteinander teilweise in einem symbiotischen, metabiotischen oder antibiotischen Verhältnisse stehen, teilweise lediglich als Kommensalen nebeneinander leben. Wohl nur aus dieser Tatsache ist es zu erklären, daß die Kultivierung der Anaerobier, die auch im Ackerboden weit verbreitet sind, wie z. B. Bacillus amylobacter, oft auf große Schwierigkeiten stößt, während sie in der sog. Mischreinkultur mit Aerobiern, welche die natürlichen Bedingungen — der eines Zusammenlebens mit Aerobiern — bis zu einem gewissen Grade nachahmt, verhältnismäßig viel leichter gelingt.

Aus diesem Grunde ermöglicht erst die Mischreinkultur, die Vergesellschaftung der Mikroorganismen in deren biologischen Wechselbeziehungen zu erforschen. Hierzu ist es erforderlich, die verschiedenartigen Organismen in Mischreinkultur gleichzeitig unter den verschiedensten Kulturbedingungen zu züchten, indem man einerseits Substrate wählt, welche womöglich gleichzeitig jedem der beteiligten Organismen Daseinsmöglichkeiten bieten, andererseits Kulturmedien wählt, in welchen primär zunächst nur einem Organismus Daseinsmöglichkeiten geboten werden, um auf diese Weise z. B. die metabiotischen Beziehungen zu klären. Ein klassisches Beispiel hierfür bieten die Untersuchungen von Omeliansky (19—25), der den Nachweis erbrachte, daß der Eiweißstickstoff zunächst weder von Bacterium nitrosomonas, noch von Bacterium nitrobacter assimiliert werden kann, sondern erst nach der Ammonifikation z. B. durch Bacillus ramosus von Bacterium nitrosomanas zu Nitrit und dieses dann von Bacterium nitrobacter zu Nitrat oxydiert wird.

In diesem Zusammenhang ist vor allem auch die Erforschung aller jener mikrobiellen Vorgänge im Boden von Wichtigkeit, die — wie ganz besonders der Zelluloseabbau — eine große praktische Bedeutung für den Kohlenstoff-Stickstoff-Haushalt des Bodens besitzen. Bedauerlicherweise bewegten sich viele der bisherigen Untersuchungen in rein chemischer Richtung, obwohl gerade bei diesen Prozessen eine biologisch überaus verwickelte Mikrobenflora am Werke ist.

Was aus den bisherigen mikrobiologisch eingestellten Untersuchungen hervorgegangen ist, ist daher auch von grundlegender Bedeutung. So wurde in Arbeiten, die in dieser Richtung liegen [Beijerinck und van Delden (1), Koch (12, 13), Pringsheim (26, 27), Tuorila (39)] der Nachweis erbracht, daß die Zellulose als solche nicht, dagegen unter Mitwirkung von Zellulose assimilierenden Bakterien den stickstoffbindenden Bakterien als Kohlenstoffquelle dienen kann. So schreibt auch S. A. Waks-

mann (40, 41): „Die Nutzbarmachung von komplexen Kohlehydraten wie Zellulosen als Energiequellen zur Stickstoffbindung hängt von der Gegenwart und Tätigkeit von zellulosezersetzenden Bakterien ab, welche die Zellulose in einfache Kohlehydrate oder organische Säuren zersetzen. Die Stickstoff-bindenden Bakterien benutzen dann diese als Energiequelle.“ Dieses Phänomen ist auch von großer praktischer Bedeutung, wenn man bedenkt, daß die primär im Ackerboden in Form von Wurzelrückständen, Blättern, Stoppeln usw. vorhandenen Kohlenstoffverbindungen nur in geringem Maße die von Azotobacter leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen wie Mannit, Saccharose, Mannose enthalten und Azotobacter z. B. pro Gramm assimilierbarer Kohlenstoffquelle nur etwa 10 mg Stickstoff bindet und sein Kohlenstoffbedarf somit als sehr hoch bezeichnet werden muß. Andererseits sind neben den stickstoffbindenden Bakterien auch solche Mikroorganismen in der Natur verbreitet, welche den gebundenen Stickstoff wieder entbinden und neben dem symbiotischen Bacterium radicicola hauptsächlich erst durch die Tätigkeit der Bakterien der Azotobacter- sowie Amylobactergruppe die Stickstoffbilanz des Bodens in der Natur sichergestellt wird. Auch muß darauf hingewiesen werden, daß die größten Quantitäten der in den Boden gelangenden Kohlenstoffverbindungen aus Zellulose bestehen. Hierüber schreibt Löhnis (16): „Was die Menge der insgesamt zum Abbau gelangenden Zellulose betrifft, so können wir etwa annehmen, daß im großen Durchschnitt jedes Hektar Land alljährlich 10—20 Doppelzentner Rohfaser liefert. Die Leistungen der zellulosezersetzenden Bakterien und Pilze sind also keineswegs gering zu veranschlagen.“

Daß auch andere von Azotobacter zunächst nicht verwertbare Kohlenstoffquellen, wie Agar-Agar, durch gleichzeitige Beimpfung des Substates mit Bacillus gelaticus in Kohlenstoffverbindungen übergeführt werden, die von Azotobacter assimiliert werden können, geht aus weiteren Untersuchungen von H. und E. Pringsheim (28) hervor. Andererseits scheint Azotobacter auch auf gewisse Zellulose vergärende Mikroorganismen einen günstigen Einfluß auszuüben, wie aus den Untersuchungen von J. R. Sandborn und Hamilton (33) hervorgeht. Es zeigte sich, daß Cellulomonas subcreta und Cellulomonas folia allein Zellulose nicht zu assimilieren vermochten, daß jedoch in kurzer Zeit in Gemeinschaft mit Azotobacter ein Zelluloseabbau einsetzte.

Da jedoch neben den zelluloseabbauenden Bakterien auch zahlreiche im Ackerboden weit verbreitete lebende Pilze, insbesondere Schimmelpilze und Actinomyceten, gleichfalls Kohlenstoffverbindungen, wie z. B. Zellulose, zu assimilieren vermögen [van Iterson (10), Scales (34, 35), H. Holzer-Janke (11), Krainky (15), Waksmann (42—44)], darf angenommen werden, daß auch durch diese die Zellulose in Verbindungen übergeführt wird, die den stickstoffbindenden „Nitrogenbakterien“ brauchbare Kohlenstoffquellen zu liefern vermögen. Diese Annahme liegt um so näher als unter den Schimmelpilzen insbesondere die Aspergillus- und Penicillium-Arten Mannit und organische Säuren zu bilden vermögen, welche bekanntlich für die Bakterien der Azotobacter- bzw. Amylobacter-Gruppe eine vorzügliche Kohlenstoffquelle darstellen. So enthielt z. B. nach den Untersuchungen von Bourquelot (2—6) das Myzel von Aspergillus niger 10% Mannit. Auch das gleichfalls im Ackerboden weitverbreitete Penicillium glaucum enthielt nach den Feststel-

lungen von A. Muntz (17) auf den verschiedensten Substraten gezüchtet stets viel Mannit. Ferner wurde im Myzel von Aspergillus fumigutus [Ravena und Pighnini (30)] und Aspergillus oryzae [Takata (38)] neben Polysacchariden Mannit nachgewiesen.

Auf Grund dieser Darlegungen kann es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß die im Myzel der Pilze befindlichen Kohlenstoffverbindungen, wie z. B. Mannit, an sich eine vorzügliche Kohlenstoffquelle für Azotobacter bedeuten; allerdings muß darauf hingewiesen werden, daß die Membranen der Schimmelpilze aus Chitin bestehen [von Wettstein (45), van Wisselingh (46)], welche mehr oder minder den Zellinhalt von der Außenwelt abschließen und dieses somit nicht ohne weiteres den Bakterien zugänglich ist. Jedoch ist zu vermuten, daß durch Exosmose oder mechanische Verletzung der Membranen auch Inhaltsstoffe in die Außenwelt gelangen, wo sie von den Bakterien aufgenommen werden können. Von ganz besonderer Bedeutung erscheinen hierbei die Chitin-abbauenden Bakterien zu sein, indem diese, wie wohl mit Sicherheit angenommen werden kann, die Chitinmembran auflösen und hierdurch die Inhaltsstoffe in erhöhtem Maße den Bakterien zugänglich machen. Auch sind zweifellos Vorkommen und Abbau des Chitins — bekanntlich bestehen auch die Gerüstsubstanzen zahlreicher Insekten aus Chitin — von gewisser Bedeutung für die physikalisch-chemischen und biologischen Vorgänge im Boden.

Den Einfluß von Hefe und Schimmelpilzen auf Azotobacter untersuchte Gerlach und Vogel (8, 9) sowie Münter (18). Sie fanden, daß die Menge des assimilierten Luftstickstoffes in denjenigen Versuchskolben, in die neben Azotobacter Pilze übergeimpft worden waren, die gebundene Stickstoffmenge geringer war als in denjenigen Kolben, die nur mit Azotobacter beimpft waren. Es übten also die bei den angeführten Versuchen in das Medium gleichzeitig überimpften Pilze einen ungünstigen Einfluß auf die Stickstoffbindung aus. Gerlach und Vogel und auch Münter ziehen hieraus den allgemein irrigen Schluß, daß Azotobacter durch Zusammenleben mit Pilzen in seiner Stickstoffbindung beeinträchtigt wird. Wenn man jedoch bedenkt, daß der Mannit auch von den gleichzeitig mit übergeimpften Pilzen assimiliert wurde, so blieb wohl nur eine gewisse Menge des Mannit für Azotobacter übrig. Auch ist bei diesen Untersuchungen nicht in Betracht gezogen, daß durch die Myzelbildung der Pilze die Nährlösung von der Atmosphäre bis zu gewissem Grade abgeschlossen wurde und infolgedessen in dieser wahrscheinlich ein Stickstoff- und Sauerstoffmangel eintrat, welcher auf die Stickstoffbindung ungünstig einwirkte.

Von Interesse sind ferner die Untersuchungen von A. Koch und Seidel (14). Die genannten Forscher beimpften Zellubiose-Agar, auf welchem Azotobacter allein nicht zu wachsen vermag, mit Aspergillus niger, sterilisierten nach Ablauf einer gewissen Zeit und beimpften ihn sodann mit Azotobacter. Es kam innerhalb von 14 Tagen zu einem Azotobacterwachstum und einer Stickstoffbindung von 2,55 mg. A. Koch und Seidel (14) glauben, dies darauf zurückführen zu können, daß die Zellubiose durch Aspergillus hydrolysiert und diese dann von Azotobacter assimiliert wurde. Nach dem oben Dargelegten erscheint es jedoch mindestens genau so wahrscheinlich, daß die im Myzel des Aspergillus niger befindlichen Kohlenstoff-Verbindungen nach einer durch die Sterilisierung mehr oder minder stark hervorgerufenen Zell-Auflösung des Aspergillus niger von Azotobacter assimiliert wurden. Auch ist der geringe Stickstoff-

gewinn von 2,55 mg — Kontrollen wurden anscheinend nicht durchgeführt — bei einer einzigen Kultur nicht sehr beweiskräftig.

Erscheint es nach diesen Ausführungen einerseits als höchstwahrscheinlich, daß auch durch die Pilze Kohlenstoff-Verbindungen, die zunächst von Azotobacter nicht verwertet werden, in Verbindungen übergeführt werden, die von Azotobacter assimiliert werden können und daß die Pilzmyzelien als solche — auf den verschiedensten Substraten gewachsen — Kohlenstoffquellen für Azotobacter darstellen, so scheint es andererseits auch möglich, daß der von Azotobacter assimilierte Luftstickstoff den Pilzen als Stickstoffquelle dienen kann und diese zum Wachstum auch in stickstofffreiem Substrate befähigt. Diese Vermutung liegt um so näher, als der Luftstickstoff durch Azotobacter in der den Pilzen zugänglichen Form von Eiweiß, Aminosäuren und anderen stickstoffhaltigen Verbindungen festgelegt wird; sei es, daß die abgestorbenen Zellen des Azotobacter als solche vielleicht autolysiert, sei es, daß der an das Nährmedium abgegebene Schleim oder in die Lösung diffundierte Stickstoff-Verbindungen, wie z. B. das Ammoniak, von den Pilzen aufgenommen werden. Ganz besonders führte zu dieser Vermutung die in früheren eigenen experimentellen Untersuchungen gemachte Erfahrung, daß sich auf der Kahmhaut älterer Azotobacter-Kulturen gewissermaßen epiphytisch ein Pilzrasen ausbreitet. Die hier aufgeworfenen, bisher noch nicht überprüften Fragen sollten in vorliegender Arbeit untersucht werden.

Eigene experimentelle Untersuchungen.

Zur Klärung der oben dargelegten Probleme — der einer wechselseitigen Beeinflussung von Bakterien und Pilzen — sollte in vorliegenden experimentellen Untersuchungen zunächst die Einwirkung von stickstoffbindenden Bakterien auf Pilze geprüft werden. Unter den Pilzen wurden die in der Natur weitverbreiteten Schimmelpilze Aspergillus niger (Stamm Boas) und Penicillium glaucum als wichtigstes stickstoffbindendes Bakterium Azotobacter chroococcum (Stamm Stapp D) ausgewählt.

Erste Versuchsgruppe.

Erste Versuchsreihe.

In Versuchsreihe 1 sollte zunächst geprüft werden, ob der von Azotobacter chroococcum assimilierte Luftstickstoff nach Abtötung der Zellen von Aspergillus niger assimiliert werden kann. Es wurden 8 Erlenmeyerkolben mit einem Fassungsvermögen von 100 ccm mit 40 ccm einer Nährlösung folgender Zusammensetzung beschickt und sterilisiert: Dikaliumphosphat 1,0 g, Kalziumkarbonat 10 g, Magnesiumsulfat 0,2 g, Natriumchlorid 0,1 g, Natriumolybdat 0,00125 g, Kupfersulfat 0,002 g, Zinksulfat 0,004 g, Eisensulfat 0,020 g, Dextrose 25 g, Aqua dest. 975 ccm (Nährlösung 1). Kupfer, Zink und Molybdän wurde der Nährlösung zugesetzt, da diese Elemente nach neueren Forschungen für Azotobacter bzw. Aspergillus niger unentbehrliche Nährstoffe darstellen [Raulin (29), Schröder (36), Roberg (31, 32), Bortels (7)]. Bei dieser sowie bei allen weiteren Versuchsreihen wurden die Kulturgefäße (Erlenmeyerkolben, Petrischalen usw.) vor dem Gebrauch mit Chromschwefelsäure gereinigt, mit destilliertem Wasser gründlich ausgespült und im Trockenschrank bei 140° eine halbe Stunde sterilisiert. Die Sterilisierung

der Kulturflüssigkeiten erfolgte bei 1,5 Atm. Druck und halbstündiger Einwirkung. Die Erlenmeyerkolben wurden nun mit Azotobacter-Reinkulturen beimpft und kamen in den Brutschrank bei einer Temperatur von 30°. Bereits nach 2 Tagen begann die Nährlösung sich zu trüben. Im weiteren Verlaufe kam es zu einer kräftigen Zoogloea-Bildung, die sich sedimentierte. Die mikroskopische Untersuchung zeigte neben plumpen Stäbchen hauptsächlich Kokkenformen. Bei der Mikro-Kjeldahlbestimmung, die nach 3 Wochen bei 2 Kulturen vorgenommen wurde, fanden sich je 6,5 mg Stickstoff pro Kolben. Die Zoogloea von 4 Kulturen wurde nunmehr unter Zurücklassung des Kalziumkarbonat-Bodensatzes auf je 4 gehärteten Filtern (Delta 325) abfiltriert und die schleimige Bakterienmasse auf den Filtern gleichmäßig mit dem Glasspatel ausgebreitet. Die 4 Filter wurden nun auf je 10 Scheiben schwedisches Filtrierpapier gelegt, in Petrischalen gegeben (Kultur 1—4), sterilisiert und mit je 10 ccm einer Nährlösung folgender Zusammensetzung, die einen ph von 4,19 aufwies, beschickt. Monokaliumphosphat 1,0 g, Magnesiumsulfat 0,2 g, Natriumchlorid 0,1 g, Natriummolybdat 0,00125 g, Kupfersulfat 0,002 g, Zinksulfat 0,004 g, Eisensulfat 0,020 g, Dextrose 25 g, Aqua dest. 975 ccm. Bei den Kontrollkulturen 5—8 und 9—12 kamen gleichfalls je 1 Deltafilter 325 auf je 10 Scheiben schwedisches Filtrierpapier. Diese wurden in Petrischalen gegeben und sterilisiert. Die Kulturschalen 5—8 wurden mit je 10 ccm der Nährlösung 2, die Kulturschalen 9—12 gleichfalls mit 10 ccm der Nährlösung 2, die jedoch einen Zusatz von 1,5 g Ammonsulfat pro Liter erhalten hatte, angefeuchtet. Die Filtrierpapierstreifen wurden in dieser sowie in sämtlichen weiteren Versuchsreihen nach der Anfeuchtung zur Entfernung der zwischen den Filtern befindlichen Luftblasen mit dem Glasspatel gleichmäßig angedrückt. Nunmehr wurden sämtliche Kulturschalen mit Aspergillus niger beimpft. Die Konidien des Aspergillus niger wurden auf dem Filtrierpapierstreifen gleichmäßig ausgestrichen. Die 12 Petrischalen kamen nun in sterile Drigalskyschalen, die, um eine Austrocknung zu verhindern, mit 5 ccm Wasser versetzt worden waren. Die Kulturen kamen nun in den Brutschrank bei einer Temperatur von 30°. Bereits nach 2 Tagen zeigte sich bei den Kulturen 1—4 und 9—12, d. h. auf denjenigen Kulturen, die mit abgetöteten Azotobacterzellen bzw. mit Ammonsulfat versetzt worden waren, eine beginnende Entwicklung des Aspergillus niger, die sich im weiteren Verlaufe in hohem Maße verstärkte, während die Kulturen 4—8 auch weiterhin nur ein äußerst schwaches Wachstum zeigten. Wie sich in weiteren Untersuchungen erwies, war dieses auf einen allerdings chemisch nicht nachweisbaren Stickstoffgehalt des unter den Deltafiltern liegenden schwedischen Filtrierpapiers zurückzuführen. Wie das Photo 1 zeigt, welches die Kultur 1 wiedergibt, hatte sich die Aspergillus niger-Entwicklung nach 2 Wochen auf den Azotobacterfiltraten so weit verstärkt, daß der Aspergillus niger als schwarzer Rasen die gesamten Kulturschalen bedeckte, während die Kulturen 5—8 — die Kultur 5 wird durch das Photo 2 wiedergegeben — eine äußerst schwache Pilzentwicklung anzeigen. Endlich lassen die Kulturen 9—12 — die Kultur 9 ist durch Photo 3 wiedergegeben — eine gute Entwicklung des Aspergillus niger erkennen.

Fassen wir das Ergebnis der Versuchsreihe 1 zusammen, so läßt sich sagen, daß der von Azotobacter assimilierte und in den Zellen bzw. im Schleim festgelegte Luftstickstoff nach Abtötung des Azotobacter von

Aspergillus niger assimiliert werden kann. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die Kulturen vor der Beimpfung mit Aspergillus niger sterilisiert wurden und der natürliche Verlauf des Assimilationsprozesses durch vorliegende Versuchsreihe noch nicht geklärt ist.

Zweite Versuchsreihe.

War in Versuchsreihe 1 der Nachweis erbracht worden, daß der im Filterrückstand durch Azotobacter chroococcum festgelegte Luftstickstoff nach vorhergegangener Sterilisation der Filtrate dem Aspergillus niger als Stickstoffquelle dienen kann und ihn befähigt, eine geeignete Kohlenstoffquelle, wie z. B. Dextrose, zu assimilieren, so sollte in Versuchsreihe 2 nachgeprüft werden, ob auch das Filtrat dem Aspergillus niger als Stickstoffquelle dienen kann. Es wurden 12 Erlenmeyerkolben mit je 40 ccm einer Nährlösung folgender Zusammensetzung beschickt: Dikaliumphosphat 0,4 g, Monokaliumphosphat 0,6 g, Kalziumkarbonat 0,5 g, Magnesiumsulfat 0,2 g, Natriumchlorid 0,1 g, Natriummolybdat 0,00125 g, Kupfersulfat 0,002 g, Zinksulfat 0,004 g, Eisensulfat 0,020 g, Dextrose 25 g, Aqua dest. 975 ccm (Nährlösung 3). Die angeführte Nährlösung wies den schwachsauren ph von 6,57 auf. Die Erlenmeyerkolben wurden mit Azotobacter-Reinkulturen beimpft und kamen in den Brutschrank bei einer Temperatur von 30°. Nach 3 Wochen wurde der Versuch abgebrochen. Die Kulturen 1—4 wurden einer Gesamtstickstoff-Analyse nach Kjeldahl unterzogen. Es ergaben sich folgende Werte:

Kultur 1	14,18 mg Stickstoff
„ 2	14,68 „ „
„ 3	14,01 „ „
„ 4	14,58 „ „

Die Kulturen 5 und 6 wurden im Berkefeldfilter abfiltriert und die Filtrate in gleicher Weise auf Gesamtstickstoff untersucht. Es enthielt das Filtrat von Kultur 5 1,12 mg Stickstoff, das Filtrat von Kultur 6 1,05 mg Stickstoff. Es war somit der allergrößte Teil des Stickstoffes von Azotobacter in den Zellen bzw. in der den Azotobacter umgebenden Schleimhülle festgelegt; auf jeden Fall in einer solchen Form, welche die Poren des Berkefeldfilters nicht passieren kann. Immerhin schien es möglich, daß auch diese geringen Stickstoffmengen den Aspergillus niger zum Wachstum befähigen, wenn man bedenkt, daß schon geringste, oft chemisch kaum nachweisbare Stickstoffspuren genügen, um die Schimmelpilze zum Wachstum zu befähigen. Es wurden nunmehr in je 12 Petrischalen 11 Filtrierpapierscheiben (Delta 325) gegeben und diese sterilisiert. Die Kulturschalen 1—4 wurden mit je 10 ccm Filtrat der Kolben 7, 8 und 9 angefeuchtet. In die Schalen 5—8 kamen 10 ccm der oben angeführten Nährlösung 3, in die Schalen 9—12 gleichfalls je 10 ccm der Nährlösung 3, die jedoch einen Zusatz von 0,8 g Ammonsulfat pro Liter erhalten hatte. Die Aspergillus niger-Entwicklung in den Kulturen 1—4 war im weiteren Verlaufe eine äußerst schwache, während die Pilzentwicklung der Kulturen 5—8 negativ blieb. Die Kulturen 9—12 zeigten eine kräftige Entwicklung des Aspergillus an. Die Kultur 1 ist durch das Photo 4, die Kultur 5 durch Photo 5, die Kultur 9 durch Photo 6 wiedergegeben.

In Übereinstimmung mit analytischen Befunden geht aus Versuchsreihe 2 hervor, daß die in dem Filtrate der Azotobacterkulturen festgelegten ge-

ringen Stickstoffmengen dem Aspergillus niger nur zu schwachem Wachstum verhalfen.

Dritte Versuchsreihe.

Nach den Befunden der Versuchsreihe 1 und 2 konnte es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß auch intra vitam, d. h. ohne Verletzung der Form und ohne Schädigung der Lebenseigenschaft durch die Sterilisation der Azotobacter-Stickstoff dem Aspergillus niger zugänglich ist. Zur Durchführung dieser experimentellen Untersuchungen kam die Nährlösung 3, die, wie oben erwähnt, den schwachsauren ph von 6,57 aufwies, in Anwendung. Wie zahlreiche Vorversuche erwiesen, war bei der Durchführung dieser Versuche der ph von 6,57 äußerst günstig. Lag der ph über 7, so zeigte sich zwar eine kräftige Azotobacter-Entwicklung, hingegen war die Aspergillus niger-Entwicklung eine äußerst langsame. Lag der ph unter 6, so fand zwar eine gute Pilzentwicklung statt, wenn die Nährlösung mit Stickstoff versetzt war, die Azotobacter-Entwicklung hingegen blieb aus. Es wurden nunmehr folgende 12 Kulturen angesetzt. Es kamen je 11 Filtrierpapierscheiben (Delta 325) in 12 Petrischalen und wurden wie üblich sterilisiert; es wurden die Kulturschalen 1—8 mit je 10 ccm der Nährlösung 3 angefeuchtet. Die Kulturen 9—12 erhielten gleichfalls 10 ccm der Nährlösung 3, die jedoch mit 0,8 g Ammonsulfat pro Liter versetzt worden war. Beimpft wurden die Kulturen wie folgt: Die Kultur 1—4 mit Azotobacter chroococcum und Aspergillus niger, die Kulturen 9—12 lediglich mit Aspergillus niger.

Die Beimpfung in Versuchsreihe 3 wurde in der Weise vorgenommen, daß die Röhrchen, welche die 10 ccm der angeführten Nährlösung enthielten, mit einer Öse Azotobacter-Suspension bzw. Aspergillus niger-Konidien versetzt wurden und kräftig umgeschüttelt wurden. Hierauf wurden die Filtrierpapierscheiben mit den beimpften Nährlösungen angefeuchtet. Die Kultur erfolgte bei 30°. Bereits nach 3 Tagen machte sich in den Kulturen 1—4 neben einer Azotobacter-Entwicklung bereits eine beginnende Entwicklung des Aspergillus niger bemerkbar, die auch bei den mit 0,8 g Ammonsulfat pro Liter versetzten Kulturen festzustellen war, während die Kulturen 5—8 auch im weiteren Verlauf keine Aspergillus niger-Entwicklung aufwiesen. Im Verlauf von weiteren 3 Wochen verstärkte sich die Entwicklung des Aspergillus niger in den angegebenen Versuchsschalen in hohem Maße.

Die Kultur 1 ist durch das Photo 7, die Kultur 5 durch das Photo 8, die Kultur 9 durch das Photo 9 wiedergegeben.

Die Versuchsreihe 3 erbringt somit den Nachweis, daß der von Azotobacter chroococcum assimilierte Luftstickstoff auch intra vitam von Aspergillus niger assimiliert werden kann und ihn bei Gegenwart einer geeigneten Kohlenstoffquelle auch zum Wachstum in einer primär stickstofffreien Nährlösung befähigt.

Vierte Versuchsreihe.

In Versuchsreihe 4 sollte nachgeprüft werden, ob auch andere Pilze in einer primär stickstofffreien Nährlösung durch das Zusammenleben mit Azotobacter chroococcum zum Wachstum befähigt werden. Zur Verwendung kam das gleichfalls in der Natur weitverbreitete Peni-

cillium glaucum. Die Versuchsanordnung war analog der von Versuchsreihe 3. Die Kulturen 1—4 wurden mit Penicillium glaucum und Azotobacter chroococcum beimpft; die Kulturen 5—8, welche gleichfalls keinen Stickstoff enthielten, lediglich mit Penicillium glaucum, die Kulturen 9—12, welche einen Zusatz von 0,8 g Ammonsulfat pro Liter enthielten, gleichfalls lediglich mit Penicillium glaucum. Die Kulturen 1—4 zeigten bereits nach 3 Tagen neben einer kräftigen Azotobacter-Entwicklung eine beginnende Entwicklung des Penicillium glaucum, welches sich weiterhin in erheblichem Maße verstärkte. Während sich auf Kultur 2 ein dichter, gleichmäßiger Penicillium-Rasen ausbreitete, kam es auf den Kulturen 1, 3 und 4 zu einer epiphytischen Entwicklung des Penicillium auf der Azotobacter-Zoogloea. Nach 14 Tagen wurde die Versuchsreihe abgebrochen. Die Kultur 1 ist durch das Photo 10, die Kultur 5 durch das Photo 11, die Kultur 9 durch das Photo 12 wiedergegeben.

Versuchsreihe 4 zeigt somit, daß auch Penicillium glaucum durch das Zusammenleben mit Azotobacter chroococcum, welches den Luftstickstoff assimiliert und ihn in aufnehmbarer Form darbietet, zum Wachstum in einer primär stickstofffreien Nährlösung befähigt wird.

Zweite Versuchsgruppe.

In Versuchsgruppe 2 sollte die eingangs aufgeworfene Frage nachgeprüft werden, ob die in den Pilzmyzelien festgelegten Kohlenstoff-Verbindungen nach Sezernierung und Sterilisierung des Myzels dem Azotobacter als Kohlenstoffquelle dienen können. Insbesondere sollte untersucht werden, ob durch Pilze Kohlenstoff-Verbindungen wie Dulcit, Arabinose, Xylose und Zellulose, die von Azotobacter nicht verwertet werden können [Stapp und Ruschmann (37)] auf dem Wege der Pilzpassage in Verbindungen übergeführt werden, die dem Azotobacter zugänglich sind. Zur Durchführung dieser Versuche wurde wieder Aspergillus niger sowie Azotobacter chroococcum verwendet. Es wurden 12 Erlenmeyerkolben mit einem Fassungsvermögen von 100 ccm mit 40 ccm einer Nährlösung von der folgenden Zusammensetzung beschickt: Monokaliumphosphat 1 g, Magnesiumsulfat 0,2 g, Natriumchlorid 0,1 g, Natriummolybdat 0,00125 g, Kupfersulfat 0,002 g, Zinksulfat 0,004 g, Eisensulfat 0,020 g, Ammonsulfat 5 g. In je 2 Kolben dieser Versuchsreihe kamen nunmehr je 1 g folgender Kohlenstoff-Verbindungen: Dextrose, Galaktose, Dulcit, Arabinose, Xylose und Erythrit. Hierauf wurden die Kolben sterilisiert und mit Aspergillus niger-Konidien beimpft. Die Kultur erfolgte bei 30° C. Nach 5 Tagen zeigte sich bei sämtlichen Kolben eine sehr kräftige Myzelbildung, die je nach den dargebotenen Kohlenstoffquellen schon gewisse makroskopische Unterschiede aufwiesen. Es wurden nunmehr die Myzelien den Kulturen entnommen, mit destilliertem Wasser abgespült und auf Filtrierpapier leicht abgetrocknet. Je viermal 0,5 g dieser gewonnenen Myzelien wurden mit je 0,1 g Kieselgur versetzt, im Mörser verrieben und in Röhrchen gegeben. Jedem der Röhrchen wurden nun 100 mg Agar-Agar zugesetzt und fernerhin je 5 ccm der in Versuchsgruppe 1 angeführten Nährlösung 1. Die Röhrchen wurden nun wie üblich sterilisiert und zu Schräg-Agarröhrchen erstarren gelassen. Hierauf wurden die Röhrchen mit Azotobacter chroococcum beimpft und in den Brutschrank gestellt bei einer Temperatur

von 30° C. In analoger Weise wurde das Myzel einer 3 Wochen alten Aspergillus niger-Kultur, welche auf reiner Zellulose gewachsen war (Filtrierpapierstreifen waren mit der hier angeführten Minerallösung getränkt und mit Aspergillus niger-Konidien beimpft worden), zum Myzel-Agar verarbeitet. Als Kontrolle dienten Agar-Agar-Röhrchen mit der gleichen Minerallösung 1, welche jedoch als Kohlenstoffquelle Dulcit, Arabinose, Xylose, Erythrit und Zellulose je 20 g pro Liter enthielten. Ferner wurde eine besondere Kontrolle mit Mannit-Agar angesetzt, die gleichfalls mit Azotobacter beimpft wurde. Die Wachstumsbefunde, die bei den 8 Tage alten Azotobacterkulturen ermittelt wurden, sind in der nachstehenden Tabelle durch die Zeichen „Wachstum = +“, „kein Wachstum = —“, „fragliches Wachstum = ±“ wiedergegeben.

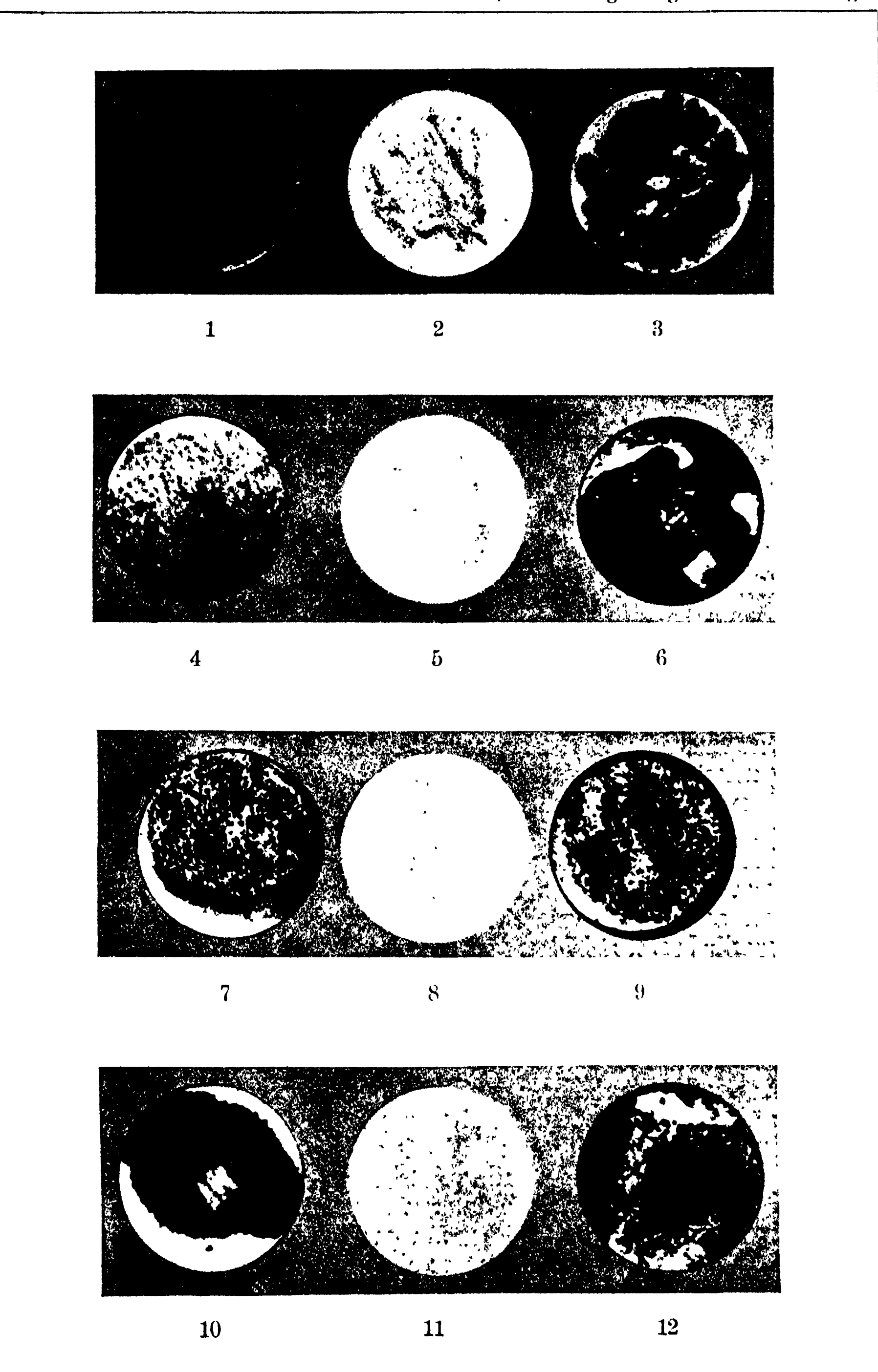
Azotobakterwachstum bei Kohlenstoffquellen mit Pilzpassage		Azotobakterwachstum bei Kohlenstoffquellen ohne Pilzpassage	
1. Dextrose	+	1. Dextrose	Sind von Azotobaktor ohne Pilzpassage assimilierbar
2. Galaktose	+	2. Galaktose	
3. Dulcit	±	3. Dulcit	—
4. Arabinose	+	4. Arabinose	—
5. Xylose	+	5. Xylose	—
6. Erythrit	±	6. Erythrit	—
7. Zellulose	+	7. Zellulose	—

Entsprechend den hier bereits erwähnten Unterschieden im Aspergillus-Wachstum, je nach den verfügbaren Kohlenstoffquellen, zeigte auch das Azotobacter-Wachstum bei den verschiedenen Kohlenstoffquellen gewisse Unterschiede. Auf Mannit-Agar (20 g Mannit auf 1000 ccm der Nährlösung 1) zeigte Azotobacter gleichfalls kräftiges typisches Wachstum

Zusammenfassung.

Es hat sich gezeigt, daß von Azotobacter an sich nichtassimilierbare Kohlenstoffverbindungen wie Arabinose, Xylose und Zellulose durch Pilzpassage so weit aufgeschlossen werden, daß sie von Azotobacter chroococcum assimiliert werden können. Wird diese Feststellung durch die in Versuchsgruppe 1 erwiesene Tatsache ergänzt, daß Aspergillus niger und Penicillium glaucum durch von Azotobacter intra vitam bzw. post mortem freigewordene Stickstoff-Verbindungen assimilieren können, so ist hiermit die in der Natur weitverbreitete Lebensgemeinschaft zwischen den Schimmelpilzarten und Azotobacter chroococcum, welche wohl teils symbiotischen, teils metabiotischen Charakter trägt, stoffwechselphysiologisch erwiesen.

Nicht berührt wird in vorliegenden Untersuchungen die Frage, ob Pilze wie Aspergillus niger oder Penicillium glaucum in der Lage sind, selbst freien Stickstoff zu binden. Jedenfalls dürfte den hier erwiesenen Wechselbeziehungen zwischen Azotobacter chroococcum und vorgenannten Pilzen eine große Rolle beim Kohlenstoff-Stickstoffkreislauf im Haushalte der Natur zukommen. Sicher sind in diesen mikrobiellen Kreislaufprozessen noch andere Mikroorganismen eingeschaltet, über deren Wechselwirkungen mit den hier geprüften Mikroben weitere Untersuchungen Aufschluß geben sollen.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Schrifttum.

1. Beyerinck, M. W. und van Delden, A., Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 9. 1902.) — 2. Bourquelot, E., E. Fischer, Ber. Chem. Ges. Bd. 28. (1895). S. 1973. — 3. Ders., Bull. Soc. Mycol. (1889). p. 132. — 4. Ders., Compt. rend. T. 3. (1890). p. 578. — 5. Ders., Bull. Soc. Mycol. Vol. 6. (1890). p. VII. — 6. Ders., Journ. Pharm. et Chim. T. (6) 2. (1895). p. 285. — 7. Bortels, H., Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung. (Arch. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 418.) — 8. Gerlach und Vogel, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 10. 1903. S. 686.) — 9. Dies., Einfluß von Hefe- und Schimmelpilzen auf Entwicklung von Bakterien der Azotobaktergruppe. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 10. 1903. S. 641.) — 10. Iterson, C. van jr., Die Zersetzung von Zellulose durch aerobe Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 11. 1904.) — 11. Janke, A. und Holzer, H., Über die Schimmelpilzflora des Erdbodens. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 79. 1929. S. 50.) — 12. Koch, A., Luftstickstoffbindung mit Hilfe von Zellulose als Energiematerial. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 27. S. 1.) — 13. Ders. (Referat Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 27. S. 633). — 14. Koch, A. und Seydel, E., Versuche über den Verlauf der Stickstoffbindung durch Azotobakter. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 31. 1912. S. 567.) — 15. Krainsky, A., Die Aktinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 41. 1914. S. 649.) — 16. Löhnis, F., Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie. Berlin (Borntraeger) 1913. — 17. Muntz, A., De la matière sucrée contenue dans les champignons. (Compt. rend. hbd. etc. T. 79. 1874. p. 1182.) — 18. Münter, F., Über Stickstoffumsetzungen einiger Aktinomyceten. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 39. S. 583.) — 19. Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 5. 1899. S. 473. — 20. Ders., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 5. 1899. S. 537. — 21. Ders., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 5. 1899. S. 652. — 22. Ders., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 8. 1902. S. 785. — 23. Ders., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 9. 1902. S. 63. — 24. Ders., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 9. 1902. S. 113. — 25. Omelianski, W. und Winogradsky, S., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 5. 1899. S. 329. — 26. Pringsheim, H., Über die Verwendung der Zellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 23. 1909. S. 300.) — 27. Ders., Weiteres über die Verwendung von Zellulose als Energiematerial zur Assimilation des Luftstickstoffs. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 26. 1910. S. 222.) — 28. Pringsheim, H. und E., Über die Verwendung von Agar-Agar als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 26. 1910. S. 227.) — 29. Raulin, J., Etudes chimiques sur la végétation. (Ann. sciences natur. V. D. T. 11. 1869. p. 93.) — Ravena e Pighini, Atti de la Reale Accademia dei Sciencei Roma. T. 19. p. 12. — 31. Roberg, M., Über die Wirkung von Eisen-, Zink- und Kupfersalzen auf Aspergillen. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 74. 1928. S. 333.) — 32. Ders., Weitere Untersuchungen uber die Bedeutung des Zinks für *Aspergillus niger*. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 84. 1931. S. 196.) — 33. Sandborn, J. R., and Hamilton, W. B., The influence of *Azotobacter chroococcum* upon the physiological activities of cellulose destroyers. (Journ. Bact. Vol. 18. 1929. p. 169. II.) — 34. Scales, F. M., Botan. Gaz. Vol. 60. 1915. p. 149. — 35. Ders., Journ. Biol. Chem. Vol. 27. 1916. p. 327. — 36. Schröder, M., Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. (Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 85. 1931/32. S. 177.) — 37. Stapp, C. und Ruschmann, G., Zur Biologie von Azotobakter. (Arb. d. Biol. Reichsanst. Bd. 13.) Berlin (Paul Parey) 1925. — 38. Takata, R., Verwendung von Mikroorganismen für menschliche Nahrungsmittel. (Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 81. S. 296.) — 39. Tuorila, P., Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 75. 1928. S. 178. — 40. Waksman, S. A., Methoden der mikrobiologischen Bodenforschung. (Handb. biol. Arbeitsmethoden, Abt. XX, Teil 3, Heft 5.) — 41. Ders., Der gegenwärtige Stand der Bodenmikrobiologie und ihre Anwendung auf Bodenfruchtbarkeit und Pflanzenwachstum. (Fortschr. Naturwiss. Forsch. Neue Folge, Heft 10.) — 42. Ders., Soil Sc. Vol. 2. 1916. p. 103. — 43. Ders., Soil Sc. Vol. 3. 1917. p. 565. — 44. Ders., Soil Sc. Vol. 6. 1918. p. 137. — 45. Wettstein, Fr. v., Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreiche. (Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Abt. I. Bd. 180. 1921.) — 46. Wisselingh, C. van, Die Zellmembran. (Handb. d. Pflanzenanatomie von Linsbauer. Bd. III/2. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1924.

Blastodendrion canis nov. sp.; ein Beitrag zur Diagnose und Systematik der asporogenen Sproßpilze[1]).

[Aus dem Institut für biochemische Technologie, Sect.: Mikrobiologie, der Technischen Hochschule Wien.]

Von **Armin von Szilvinyi.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Den Sproßpilzen kommt außer ihrer technischen Bedeutung auch ein gewisses Interesse als Erreger verschiedener Krankheiten, die meist mit dem Ausdruck Blastomykosen bezeichnet werden, zu. Über solche liegen aus jüngster Zeit Beobachtungen von Castellani (1928), Windholz (1929), Urbach und Zach (1930), Cossery (1930), Pribram (1930), Seiler (1932), Catanei (1932), Meyer (1932), Nino und Perez (1932), Sartory, Sartory, Weill und Meyer (1932), Zimmer, Weil, Sartory und Meyer (1932), Hammerschlag (1933) vor. Die älteren Befunde sind in den Handbüchern von Jadassohn und Kolle-Kraus-Uhlenhuth vom medizinischen, in der Monographie von Guilliermond-Tanner vom mykologischen Standpunkt aus zusammengefaßt. In Anbetracht dieser reichen Literatur ist es wohl befremdend, daß die Identifizierung der Sproßpilze, besonders der asporogenen, auf bedeutende Hindernisse stößt. Der Hauptsache nach sind diese Schwierigkeiten auf zwei Faktoren zurückzuführen; auf die große Variabilität der hierher gehörigen Organismen und auf die eingebürgerten Unklarheiten diagnostischer und systematischer Natur. Es haben sich hierdurch Zustände herausgebildet, die von Kluyver (1932) mit vollem Recht als chaotische bezeichnet wurden. Die eben erwähnten Unklarheiten systematischer Natur sind historisch bedingt. Die Mykologie entwickelte sich einerseits im Rahmen der Botanik, andererseits als medizinische Hilfswissenschaft wie auch als technische Mykologie; dadurch konnte es geschehen, daß sich gleiche Namen für verschiedene Begriffe, verschiedene Namen für gleiche Begriffe einbürgerten.

Die Notwendigkeit einer einheitlichen Klassifikation näher zu begründen, ist wohl überflüssig und andererseits ist es auch selbstverständlich, daß für die in Rede stehenden Organismen als Pflanzen die Betrachtungsweise der botanischen Systematik als maßgebend anzusehen ist. Von manchen Autoren, wie Ota (1924, 1928) sowie Ciferri und Redaelli (1929) wurde ja auch bereits eine Vereinheitlichung der verschiedenen Klassifikationen versucht und wenn auch manche Autoren, wie Sabouraud sowie Bruhns und Alexander gegenteiliger Ansicht sind, d. h. eine Klassifikation pathogener Organismen lediglich nach dem klinischen Bild der Erkrankungen befürworten, so ist ein solches Vorgehen wohl nurmehr bei botanisch unzulänglich untersuchten Organismen, wie z. B. dem Großteil der Dermatophyten, am Platze.

Das Hauptkennzeichen der Sproßpilze ist, wie dies schon in der Namensgebung zum Ausdruck kommt, die Sprossung; worunter jene Art der vege-

[1]) Siehe auch Sitzungsbericht der Wiener Mikrobiologischen Gesellschaft. (Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Ref. 109. S. 431—432.)

tativen Vermehrung zu verstehen ist, bei der die Mutterzelle eine Ausstülpung, den Sproß hervortreibt, der durch allseitiges Wachstum schließlich die Größe der Mutterzelle erreicht, von der er sich dann durch Querwandbildung abtrennt. Bleiben die einzelnen Sprosse aneinanderhängen, so spricht man von Sproßverbänden oder Sproßbäumchen. Synonym mit Sproßpilz wird sehr häufig der Ausdruck „Hefe" gebraucht, aber nicht ganz mit Recht. Diese technologische Bezeichnung muß vielmehr den Sproßpilzen mit Gärvermögen vorbehalten bleiben. Schon Lindau (1904) unterschied bei Auftreten der Sprossung drei verschiedene Fälle:

1. Unter normalen Ernährungsverhältnissen ausschließlich Sprossung.
2. Außer dem Sproßmyzel normalerweise auch typisches Myzel.
3. Lediglich unter ungewöhnlichen Bedingungen Sproßmyzel bildend.

Viele Autoren unterschieden nun nicht genügend scharf zwischen typischem Myzel und Sproßmyzel und so kam es, daß viele Angehörige der Gruppe II, ja manchmal auch solche der Gruppe III unter die Sproßpilze aufgenommen wurden. Unter den pathogenen Sproßpilzen sind nur wenige zur Ascosporenbildung befähigt; der Großteil derselben, dem also diese Eigenschaft mangelt, wird als zu den Fungi imperfecti gehörig betrachtet. Der erste Versuch einer Klassifikation der asporogenen pathogenen Sproßpilze, der aber heute wohl nur mehr historisches Interesse besitzt, stammt von de Beurmann und Gougerot (1910). Die erste brauchbare Einteilung verdanken wir Guilliermond und Tanner (1920).

Fam. Non-Saccharomycetes. Keine askosporenbildenden Sproßpilze.

Genus 1: Torula Turpin. Meist sphärische Zellen
Genus 2: Pseudosaccharomyces Kloecker. Zugespitzte Zellen.
Genus 3: Mycoderma Pers. Zellen im allgemeinen länglich.
Genus 4: Medusomyces Lindau.
Genus 5: Cryptococcus Kuetzing-Vuill. Parasitische Arten.

Diese Einteilung zeichnet sich dadurch aus, daß folgerichtig nur solche Sproßpilze einbezogen wurden, die kein typisches Myzel bilden. Dagegen muß Medusomyces Lindau gestrichen werden, da es sich bei diesem vermutlichen Genus, wie eine Untersuchung Lindners (1913) zeigte, um eine Symbiose des Essigsäurebakteriums Bact. xylinum mit Sproßpilzen handelt.

Auch die Abtrennung von Arten bloß auf Grund ihrer (fakultativen) parasitischen Lebensweise, wie bei Cryptococcus, ist unzweckmäßig. Buschke-Joseph (1924) legten ihren Klassifikationsversuchen mehr die klinischen Bilder der Erkrankungen zugrunde, während Ota wieder die morphologischen Gesichtspunkte in der Vordergrund stellte. System von Ota (1924).

Fam. Thallosporaceae.
Abt. Blastosporaceae.
Genus Cryptococcus: Weder Myzel noch Andeutung eines solchen.
Genus Myzeloblastonon: Wahres Myzel oder Andeutung eines solchen.
Subgenus Blastodendrion: Pseudomyzelbildung.
Subgenus Myzelorhyzodes: Wahres Myzel oder Andeutung eines solchen.

Subgenus Monilia: Sprossung in Ketten und in Verzweigungen am Ende von Hyphen.

1928 veröffentlichte derselbe Autor eine veränderte Fassung seines Systems, welche sich der Hauptsache nach durch Auflassung des Subgenus Blastodendrion und Festlegung einzelner Typen unterschied. Otas Einteilungen weisen dieselben Fehler auf wie die von Beurmann und Gougerot (1910); erstens die Nichtbeachtung des Unterschiedes von echtem und Pseudomyzel, so daß einzelne Genera, wie Myzelorhyzodes und Myzeloblastonon morphologisch ganz verschiedene Arten umfassen und zweitens die willkürliche Neubenennung von bereits bekannten und beschriebenen Arten. Inzwischen hatte Janke (1924) ein auf botanischen Prinzipien fußendes System der asporogenen Sproßpilze unter hauptsächlicher Berücksichtigung der technisch wichtigen Arten gegeben; er faßte sie in eine Gruppe der Fungi imperfecti, den Pseudosaccharomycetes, zusammen. Dieser Klassifikation in mancher Hinsicht sehr ähnlich sind die anscheinend ohne Kenntnis der Arbeit Jankes verfaßten Einteilungen Ciferris (1925) sowie Ciferris und Redaellis (1929); doch verfielen auch diese Autoren in den Fehler Otas und trennten myzelbildende Formen nicht scharf genug von den eigentlichen Sproßpilzen.

In der Zwischenzeit veröffentlichte Castellani (1926) ein System der pathogenen Pilze, welches wie die Klassifikationen Otas auf das Vuilleminsche System aufgebaut ist. Dieser Autor verfuhr jedoch sehr summarisch, so faßte er z. B. sämtliche Mycotoruleae Janke in das Genus Mycoderma Persoon zusammen; eine Zusammenlegung, die durchaus nicht zu rechtfertigen ist.

Im folgenden sei, fußend auf die Klassifikationen Jankes sowie Ciferris und Redaellis unter Berücksichtigung neuerer Ergebnisse, ein eindeutiges System der asporogenen Sproßpilze versucht, das sowohl dem Botaniker wie dem Mediziner gerecht wird und jede Doppelbezeichnung vermeidet. Allerdings kann dies heute nur unter alleiniger Verwendung morphologischer und physiologischer Gesichtspunkte geschehen, denn unsere zytologischen und phylogenetischen Kenntnisse auf diesem Gebiet sind noch viel zu gering, um systematische Anhaltspunkte liefern zu können, wie dies ja auch schon von Ciferri (1930) festgestellt wurde.

Familie Torulopsidaceae.

Als Ergebnis langjähriger Untersuchungen faßte Will als erster (1903, 1906, 1908, 1912) die asporogenen Sproßpilze in eine Familie, die Torulaceae, zusammen, welche er folgendermaßen charakterisierte:

Form und Größe der Zellen sehr mannigfaltig, Zellhaut sehr verschieden stark, mitunter schleimig. Myzel entweder bloß aus Kurzsprossen bestehend oder auch Langsprossen bildend, dies sehr vom Milieu abhängig. Die Langsprossen gehen niemals in ein unseptiertes oder septiertes typisches (Faden-) Myzel über. Mitunter Kronenbildung sowie Auftreten von Riesenzellen und Aberrationsformen. Plasma, abgesehen von evtl. vorhandenen Ölkörperchen, blaß, Vakuolen kommen vor. In Flüssigkeitskultur häufig Bildung von Häutchen, Ringen und Bodensätzen. Oberflächenvegetation nach Typ III, seltener nach Typ I. Kolonien weiß oder gelblich, weniger häufig farbig; in letzterem Falle meist rosa bis rot. Wenig oder kein Gärvermögen, zumindest selten ein ausgesprochenes. Säuremehrer und Säurezehrer. Koagulieren meist Milch, entwickeln in sulfatfreier Nährlösung aus gepulvertem Schwefel Schwefelwasserstoff. Gelatine wird meist verflüssigt.

Janke (1924) machte darauf aufmerksam, daß sowohl der Ausdruck „Torula“ wie auch die davon abgeleiteten Bezeichnungen Toruleae und Torulaceae für Organismen dieser Gruppe unzulässig sind, da ja Torula schon 1801 von Persoon für eine Dematiaceengattung vergeben worden war. Er wählte die Bezeichnung Pseudosaccharomycetes, um so den Gegensatz zu den sporulierenden Saccharomycetes zum Ausdruck zu bringen. Ciferri (1925) nannte diese Gruppe, von ihm als Familien aufgefaßt, im Einklang mit Art. 52 der Internationalen Regeln der Botanischen Nomenklatur Torulopsidaceae, welche Bezeichnung beibehalten werden soll. Allerdings ist es zwecks der eingangs erwähnten Trennung zwischen eigentlichen Sproßpilzen und solchen mit typischem Myzel nötig, Ciferris Familiendiagnose im Sinne der ursprünglichen Willschen Auffassung zu emendieren.

Fam. Torulopsidaceae Cif. (1925) emend. Szilvinyi;
syn. Pseudosaccharomycetes Janke (1924),
Torulopsidaceae Cif. p. max. p.,
Non-Saccharomycetes Guill. p. max. p.,
Torulaceae Will. (1916) nec Payer (1850) emend. Sacc,
Cryptococcaceae Auct. p. max. p.,
Oosporaceae Sacc. p. min. p.,
Moniliaceae Auct. p. min. p.

Mycelium vel cellulis prolificis brevibus vel etiam elongatis compositum, in alio substrato valde variabile. Cellulae prolificae semper a mycelio-hyphoso septato vel aseptato optime distinctae hinc inde giganteae, forma irregulari; rotundae vel ellipticae vel aberrantae, continuae, guttulis oleosis vel vacuolis impletae, hyalinae vel dilutae rosaceo vel sanguineo coloratae In umore pelliculae vel annuli vel sedimenta formantes. Vegetatio superficialis ut in typo III, rarius in typo I. Fermentatione alcoholica deficiente vel rariter distincta. Ascosporae nullae sed (in sectione Asporomyces) stolonibus asciformibus munitae.

Bereits von Will wurden die asporogenen Sproßpilze in zwei Gruppen geschieden, I, deren Myzel bloß aus Kurzsprossen besteht; II, durch das Vorherrschen von Langsprossen gekennzeichnet.

Janke übernahm diese Einteilung und nannte I Hyalotoruleae, II Mycotoruleae. Ciferri (1925) unterschied:

a) Cryptococcaceae Kuetz-Vuill., bloß mit Sproßzellen.
b) Mycotoruleae Cif. et Red., außer Sproßzellen auch Andeutung von Myzelbildung; Hyphen oder Pseudohyphen nebst Sproßzellen.
c) Blastodendrion Ota nimmt eine Zwischenstellung ein.

1929 wurde von Ciferri und Redaelli Blastodendrion in Mycotoruleae einbezogen und für Cryptococcaceae der Ausdruck Torulopsideae gewählt. Da jedoch die Vermischung von Hyphomyceten mit Sproßpilzen in Mycotoruleae gegenüber Will resp. Janke einen Rückschritt bedeutet, so wird auf die Definitionen dieser beiden Autoren zurückgegriffen.

Tribus: Torulopsideae Cif. et Red. (1929);
syn.: Hyalotoruleae Janke (1924),
Torulaceae Will, Gruppe I (1916),
Cryptococcaceae Kuetz.-Vuill. (1911) sensu Cif. et Red.,
Eucryptococcus Boll. et Nann. pro max. p.,

Blastomycetaceae Auct. p. p.,
Non-Saccharomycetes Guill. (1912) p. p.
Tribus: Mycotoruleae Janke;
syn.: Torulaceae Will, Gruppe II,
Mycotoruleae Cif. et Red. (1929) p. p.,
Blastomycetaceae Auct. p. p.,
Non-Saccharomycetes Guill. (1912) p. p.
Tribendefinition:

Torulopsideae:
Mycelium cellulis prolificis brevibus formatum.

Mycotoruleae:
Mycelium imprimis cellulis prolificis ellongatis formatum.

Ceterum ut in diagnosi familiae.

Die weitere Unterteilung der beiden Triben erfolgt nach morphologischen Gesichtspunkten.

Tribus: Torulopsideae:

A. Typische Form der Kurzsprosse zitronenförmig: Klöckera Janke,
B. Form rund oder elliptisch: Genus Torulopsis Berl. emend. Janke.
   a) Bildung von Kopulationsschläuchen: Sect. Asporomyces (Chab.) Szilvinyi,
   b) Keine Bildung von Kopulationsschläuchen, Ölkörperchen bereits in jüngeren Zellen, Oberflächenvegetation I: Sect. Eutorulopsis (Will) Janke,
   c) Ölkörperchen erst in älteren Zellen. Oberflächenvegetation III: Sect. Torulopsis (Will) Janke.
C. Zellen sehr klein, häufig flaschenförmig. Keine Öltröpfchen: Genus Pityrosporum Sab. emend. Szilvinyi.

1. Genus Klöckera Janke.

Von Kloecker (1912) als Pseudosaccharomyces beschrieben, aus Prioritätsgründen von Janke (1923) in Klöckera geändert.

Genusdefinition:

Cellulis prolificis imprimis apiculatis, raro compositis. Refractio plasmatis infirma. Cellulae juveniles bene altae, unum vel duo corpora oleosa. Cellulae giganteae apiculatae cum una vacuola.

2. Genus Torulopsis Berl. emend. Janke.

Pasteur beschrieb 1876 Organismen „sans mycelium, qui se multiplient par bourgeonnement à la manière de la levure de bière . . . qui ne sont pas des ferments" und welche er mit Torula bezeichnete, ebenso wie später Hansen (1888), der diesen Organismen ein eingehenderes Studium widmete. Ähnliche Organismen waren schon 1838 von Turpin mit Torula bezeichnet worden, doch ist es heute nicht mehr möglich, Turpins Organismen einwandfrei zu agnoszieren. Berlese (1894) nannte dieses Genus Torulopsis und wie Janke (1924) und scheinbar in Unkenntnis der Arbeit dieses Autors, Ciferri (1825) betonten, ist Torula zu streichen, da Persoon bereits 1801 diesen Namen an eine Dematiaceengattung vergeben hatte[1]). Leider werden hierhergehörige Sproßpilze sowohl in der medizinischen wie in der technischen Literatur sehr häufig mit Torula bezeichnet, ein Gebrauch, der zu allerhand Mißverständ-

[1]) Torulopsis Berl. ist jedoch nicht zu verwechseln mit Torulopsis Oud., mit welchem Namen Oudemans 1903 eine Hyphomycetengattung belegte, die Saccardo 1906 in Torulina umbenannte.

nissen führt. So geben Bruhns und Alexander (1932) für Torula Pasteur-Hansen (i. e. Torulopsis Berl.) folgende Definition:

Die Toruleae sind eine besondere Gruppe der Hefen. Die Torula ist gewöhnlich kleinzellig, es entstehen meist durch Myzelzerfall Konidienketten, die wiederum leicht in Einzelkonidien zerfallen (Lindau). Dieser Autor beschreibt aber ganz richtig (1922) Toruleae Sacc. als zweite Unterabteilung der Dematiaceae; diese richtige Beschreibung eines durch echtes Myzel und dunkle Färbung gekennzeichneten Schimmelpilzes wird demnach infolge Namensgleichheit mit einem Sproßpilz als dessen Charakterisierung gegeben! Dasselbe Mißverständnis findet sich übrigens auch bei Castellani (1926). Das Genus Torulopsis wurde zuerst von Janke, später von Ciferri (1925) emendiert, nachdem die jüngere Emendation sich in nichts von der Jankes unterscheidet, ist sie wohl hinfällig.

Genus: Torulopsis Berl. emend. Janke (1924);

syn.: Torulopsis Berl. emend. Cif. (1925),

Torula Turpin (1838) sensu Pasteur-Hansen emend. Will (1916) p. max. p. nec Persoon (1796) emend. Sacc. nec. Torulopsis Oud.

Genusdefinition: Cellulae rotundae aut ellipticae hinc inde ellongatae. Magnitudine variabili. Ceterum ut in diagnosi familiae.

Typus: Torulopsis gelatinosa (Will) Janke.

Von Ciferri und Redaelli als Neotypus vorgeschlagen.

Zellen rund oder elliptisch, langgestreckte Zellen nur vereinzelt. Größe der Zellen schwankend. Dickwandige Dauerzellen sowie Riesenzellen kommen vor. Die Riesenkolonien einfache, mehr oder minder flache Beläge mit schwach gebuchteter Randlinie, die Oberfläche höchstens radial gestreift mit flachen bis warzigen Erhebungen. Gärvermögen vorhanden oder fehlend. Organische Säuren werden gebildet.

a) Sectio: Asporomyces.

Von Chaborski (1919) als Genus aufgestellt. Auf geeigneten Substraten, wie Gorodkowa-Agar oder Kartoffel werden Kopulationsschläuche ausgebildet, in welche auch manchmal Plasmaeinwanderung stattfindet; Kernfusionen wurden jedoch nie beobachtet. Das Sporenbildungsvermögen ist vollkommen erloschen. Die Zellen sind klein, sphärisch und enthalten in jungem Zustand keine Öltröpfchen, Kolonien gelblich. Vergären Saccharose, Glukose, Maltose, Raffinose und Inulin, nicht aber Galaktose, Laktose, Dextrin und lösliche Stärke. Gelatine wird verflüssigt. Die Autorin verglich obigen Organismus mit Schwanniomyces occidentalis Kloecker, der des Sporenbildungsvermögens verlustig ging, doch stimmt das Gärvermögen beider Arten gar nicht überein.

Definition: Cellulae stolonibus asciformibus munitae. In statu juvenili corpora oleosa desunt. Ceterum ut in diagnosi generis.

Typus: Torulopsis (Asporomyces) aspora (Chaborski) Szilvinyi.

b) Sectio: Eutorulopsis (Will) Janke.

Will (1916) unterteilte seine I. Gruppe der Familie der Torulaceae in 2 Gattungen, Eutorula und Torula; auf Grund der bei Torulopsis angeführten Erwägungen wurden von Janke (1924) diese Bezeichnungen in Eutorulopsis bzw. Torulopsis s. str. umgewandelt und als Sektionen beibehalten. 1925 führte Ciferri, ebenso wie bei Aufstellung des Genus Torulopsis ohne Berufung auf Janke,

also anscheinend in Unkenntnis dieser Arbeit, dieselben Umänderungen durch. Ciferri und Redaelli emendierten dann 1929 diese Section, doch unterscheidet sich diese in nichts von der Jankes im Jahre 1924. Von denselben Autoren wurde in derselben Arbeit als Sectionstypus (Neotypus) Torulopsis (Eutorulopsis) ellipsoidea (Will) Janke aufgestellt; doch scheinen Will sowie Ciferri und Redaelli verschiedene Organismen in der Hand gehabt zu haben; Will gibt ausdrücklich an, daß neben runden und elliptischen Formen auch zitronenförmige auftreten, die letztgenannten Autoren betonen dagegen, daß dies nicht der Fall sei. Im Hinblick auf diese Tatsache sowie auf den Umstand, daß Eu. ellipsoidea, wie schon Will betont, einen Übergang zu den Mycotoruleae bildet, erscheint es zweckmäßiger, die besser definierte und auch in einer Anzahl wohldefinierter Stämme vorhandene Eu. colliculosa (Hartmann-Will) Janke als Typus zu wählen.

Definition: Refractio plasmatis modica. Corpora oleosa singula vel pluria etiam in modo juvenili. Vegetatio superficialis in umore ut typus I. Ceterum ut in diagnosi generis.

Typus: Torulopsis (Eutorulopsis) colliculosa (Hartmann-Will) Janke.

Zellen kreisrund, bereits in jüngeren Zellen Öltröpfchen. Durchmesser 1,7—9,7 μ; meist 3,5 μ. Knospung kann an einer beliebigen Stelle der Mutterzelle eintreten, auch kommt Kronenbildung vor. Die Zellen oft in Ketten zu zweien oder dreien, Mutterzelle oft bedeutend größer als die Tochterzellen. Riesenkolonien mit warzigen Erhebungen. Die Optimaltemperatur auf Würzeagar zwischen 25—30°; Grenzen der Sprossung bei 7° und 45°. In Würze nach 24 Std. bei 25—30° ein weißer pulveriger Niederschlag. Vergärt Dextrose, Saccharose und Raffinose; Maltose wird bloß von den alten Zellen vergoren, die jungen sind hierzu nicht fähig.

c) Section: Torulopsis; st. (Will) Janke.

Definition: Refractio plasmatis amplior quam in Eutorulopside. In statu juvenili corpora oleosa desunt. Ceterum ut in diagnosi generis.

Typus: Torulopsis gelatinosa (Will) Janke.

C. Genus: Pityrosporum Sabouraud emend. Szilvinyi.

Von Sabouraud 1895 als Genus aufgestellt. Die von den verschiedenen Autoren als hierher gehörig betrachteten Organismen sind allermeist parasitischer Natur oder bewohnen saprophytisch den Hornhautdetritus von Mensch und Tier. Ciferri und Redaelli betrachten als Hauptmerkmale dieser Sektion das Fehlen einer kräftigen doppelten Konturierung der Zellen sowie das Fehlen von größeren Sproßverbänden. Beide Merkmale sind wohl nicht charakteristisch, da das erste, welches leider ja häufig zur Charakterisierung herangezogen wird, lediglich auf einen mangelhaften Ernährungszustand oder Alter der Zellen beruht; spärliche Aggregationen kommen aber auch in den anderen Sektionen vor. Typisch hingegen, wenn auch auf den einzelnen Nährböden verschieden stark ausgeprägt, ist das Auftreten von flaschenförmigen Zellen, die ein Sprossungsstadium darstellen sowie das Auftreten von Aberrationsformen, die Langstäbchen von Bakterien gleichen.

Genus: Pityrosporum Sabouraud emend. Szilvinyi.
syn.: Torula Turpin (1838) sensu Pasteur-Hansen p. p.,
Cryptococcus Kütz.-Vuill. p. p. (Typ Ota II 1924),
Saccharomyces Auct. p. p.

Genusdefinition: Corpora oleosa desunt. Cellulae exiguae saepe ampulliformes; formae aberrantes crebrae bacillares. Vulgo parasiticae. Ceterum ut in diagnosi familiae.

Typus: Pityrosporum Malassezii Sab. emend. Benedek.

Cellulis plerumque globosis hyalinis, 7,8—10,4 μ diam. Protoplasmate initio homogeneo, granuloso postremo et in hoc stadio tunica spina refringenti praeditis, granum nucleiforme globosum refringente instructis vel vacuolata, nunc solitaris nunc gemmiferis rarus in parvas greges confertis nec hyphas, nec sporidia proferentibus. Hab. saprophytice in strato corneo epidermidis integumenti corporis humani in Lipsia, Germaniae. Coloniae in agar maltosato (Sabouraud) prima aetate subrotundatae, dein magis extensae, glabrae brunneae (nach Benedek).

Tribus: Mycotoruleae Janke.

A. Es wird kein Pseudomyzel gebildet.

1. Alkoholische Gärung von Zuckerarten: Genus: Mycotorula Will.
2. Keine solche. Starke Alkoholzehrung: Genus Mycoderma Pers. emend. Will.

B. Pseudomyzel wird gebildet.

1. Zellen spindelförmig zugespitzt: Genus Pseudomycoderma Will.
2. Sproßzellen gedrungen, keine Gärung, kräftige Deckenbildung: Genus Pseudomonilia Geiger.
3. Wie 2, jedoch keine Deckenbildung: Genus Blastodendrion Ota.

1. Genus Mycotorula Will.

syn. Mycotorula Cif. et Red. pro p.,
Mycelorhizodes Ota pro min. p.,
Saccharomycetes Auct. p. p.

Genusdefinition: Pseudomycelium nullum. Cellulae prolificae primum breves deinde ellongatae. Diadematio raro. Fermentatio alcoholica distincta. Ceterum ut in diagnosi generali.

Typus: Mycotorula craterica Will.

Verzweigtes festgefügtes Sproßmyzel aus langgestreckten Zellen, die an ihren Enden kugelförmige und elliptische Zellen bilden, die ihrerseits in langgestreckte übergehen. Rasche Hautbildung nach Typ II auf Bierwürze und sonstigen geeigneten fl. Substraten. Riesenkolonien ziemlich flach und glatt mit typischer Kräuselung, welche mit Kraterbildung beginnt. Gelatine wird verflüssigt. Gärungsvermögen gut ausgeprägt.

2. Genus: Mycoderma Persoon emend. Will.

Ähnlich verworrene Verhältnisse wie im Genus Torulopsis herrschen unter den Organismen, welche von den verschiedenen Forschern mit dem Namen Mycoderma bezeichnet wurden. (Ältere Literatur Lafar, Bd. V, 544). Persoon (1822), welcher den Namen Mycoderma erstmalig verwandte, bezeichnete damit die sich auf alkoholischen Flüssigkeiten bildenden schleimigen Häute, doch beschrieb er diese nur dem Aussehen nach, ohne auf die sie bildenden Organismen näher einzugehen. Aus dieser unklaren Definition entwickelte sich der Übelstand, daß der Name Mycoderma für drei verschiedene Genera gebraucht wurde. Thomson (1852) bezeichnete mit Mycoderma aceti den schleimigen Bodensatz der Essiggärung; für den Erreger derselben wurde der gleiche Namen von Pasteur (1886) verwendet. Hansen (1879) nannte ein Essigbakterium

Mycoderma Pasteurianus. Eine Zeitlang wurde auch Mycoderma im Sinne Thomsons von den amerikanischen Bakteriologen für das heutige Genus Acetobacter gebraucht, Typ Mycoderma aceti (Winslow 1917, 1918) aber dann endgültig von Winslow (1920) zugunsten von Acetobacter aufgegeben; ebenso hatte Desmazières (1826) mit Mycoderma die Erreger der Essiggärung bezeichnet. Vuillemin u. Tannin (1913) bezogen Mycoderma Pers. in die Gattung Oidium ein und emendierten die Genusdiagnose in dieser Hinsicht, als Typ wurde Oidium lactis Fres. gewählt. Loubiere (1924) und Guillermond (1928) ersetzten Oidium lactis Fres. durch das ihrer Auffassung nach mit jenem identische Geotrichum candidum Link und Vuillemin betrachtete Mycoderma als ein auf trockenem Substrat gewachsenes Geotrichum. Obwohl nun die hierhergehörigen Organismen aus Prioritätsgründen mit Geotrichum bezeichnet werden müßten, entschloß sich Vuillemin, um Irrtümer zu vermeiden, doch den gebräuchlicheren Namen Mycoderma beizubehalten und Guillermond gab folgende Definition: Sproßpilze, welche auf Bierwürze von Beginn an unter Kahmhautbildung gedeihen und für gewöhnlich keine Gärfähigkeit zeigen. Zellen häufig zylindrisch mit Vakuolen, häufig Ketten bildend, manchmal rot oder rosa gefärbt. Riesenkolonien trocken, durchsichtig, oft grau. Doch erinnert Guilliermonds Definition vielmehr an jene von Will (1910), der Persoon emendiert hatte und folgende Diagnose gab: Zellen zylindrisch, an den Enden mehr oder minder abgeplattet, häufig gebogen; im Alter meist langgestreckt. Sparrige Sproßverbände ohne Kronenbildung. Zellinhalt schwach lichtbrechend; ältere Zellen mit 1—3 Vakuolen, zuweilen mit Ölkörperchen. Kahmhaut bildend, keine alkoholische Gärung der Zuckerarten, Alkoholzehrer." Ciferri und Redaelli machten sich wiederum Vuillemins Beweisführung zu eigen, erkannten Mycoderma nicht an und nannten das Genus wie Vuillemin und Guilliermond Geotrichum, sagen aber selber ausdrücklich, daß die richtige Stellung dieses Genus bei den Arthro- und nicht bei den Blastosporeen zu suchen ist. Vergleicht man jedoch Stämme der Genera Geotrichum Link und Micoderma Pers. emend. Will, so zeigt sich, daß die oben geschilderte, von manchen Autoren durchgeführte Gleichsetzung nur dadurch zustande kommen konnte, daß der Unterschied zwischen echtem Myzel und Sproßmyzel nicht genügend beachtet wurde. Geotrichum Link bildet ganz eindeutig durch Spitzenwachstum typisches Myzel, während die Sproßverbände von Mycoderma Pers. ihre Entstehung einem regelrechten Sprossungsvorgang verdanken. Die Ähnlichkeit der beiden Genera besteht darin, daß Geotrichum durch Oidienzerfall· Sproßkonidien bilden kann, die in diesem Zustand naturgemäß den aus dem Sproßverband gelösten Zellen von Mycoderma ähneln.

Genus: Mycoderma Pers. emend. Will nec Mycoderma Thomson.

syn.: Mycoderma Guilliermond p. max. p.,
Geotrichum Auct. p. p.,
Oidium Auct. p. p.,
Oospora Auct. p. p.

Genusdefinition: Cellulae cylindricae $\pm$ detruncatae, saepe arcuatae, in statu evoluto ellongatae. Diadematio nulla. Refractio plasmatis modica in

cellulis maturis. Vacuolae 1—3, interdum corpora oleosa. In umore mox cutis superficialis primum opaca, decolor et extensibilis, deinde cretacea, demum flavescens. Fermentatio alcoholica nulla, sed C_2H_5OH consumens.

3. Genus: Pseudomycoderma Will.

Cellulae prolificae fusiformes demum in tenues filiformes exeuntes. Vegetatio superficialis in cerevisia afermentata ut Typus IIa. Fermentatio alcoholica in saccharis quibustam imprimis presentes.

Typ: Pseudomycoderma vini Will (1916).

4. Genus: Pseudomonilia Geiger.

Genusdefinition: In statu juvenili imprimis cellulae rotundae, maturae longae, filiformes, ramosae; mycelio vero aseptato similes. Refractio plasmatis modica. Tegumen intensam in modo cutis robustae hinc inde chondroideae. Fermentatio alcoholica nulla vel modica.

5. Genus: Blastodendrion Ota emend. Szilvinyi.

Ota (1924) vereinigte sämtliche Pseudomyzel bildenden asporogenen Sproßpilze, also den Mycotoruleae entsprechend in ein Subgenus Blastodendrion, welches 1929 von Ciferri und Redaelli zum Genus erhoben wurde. Morphologisch ist Blastodendrion wohl nicht von Pseudomonilia unterschieden, während aber Pseudomonilia durch kräftige Deckenbildung ausgezeichnet ist, fehlt Blastodendrion dies Vermögen ganz und es ist vielleicht zweckmäßig, dieses Genus bis auf weiteres beizubehalten.

Genus: Blastodendrion Ota emend. Szilvinyi.

syn.: Monilia Auct. p. p.,
Torula Auct. p. p.,
Cryptococcus Auct. p. p.

Genusdefinition: Tegumentum nullum. Ceterum ut in Pseudomonilia. Plerumque habitaculum parasiticum.

Typus: Blastodendrion Krausii Ota.

Zellen rund, oval, elliptisch, länglich oder verschiedener Gestalt; hyalin oder hellfarbig. Die Tochterzellen bleiben teilweise aggregiert und bilden ein Pseudomyzel; Riesenkolonien Typ I oder III; wenig oder gar kein Gärvermögen. Keine Deckenbildung.

Bestimmungsschlüssel.

Sproßmyzel bloß aus Kurzsprossen: Tribus Torulopsideae A.

Es dominieren Langsprossen: Tribus Mycotoruleae B.

A 1. Form der Sprosse zitronenförmig: Gen. Klöckera Janke.

A 2. Form der Sprosse rund oder elliptisch: Gen. Torulopsis Berl. emend. Janke 3.

A 3. Bildung von Kopulationsschläuchen: Sect. Asporomyces (Chab.) Szilvinyi.

Keine Bildung von solchen: A 4.

A 4. Öltröpfchen bereits in jungen Zellen. Oberflächenvegetation, Typus I: Sect. Eutorulopsis (Will) Janke.

Öltröpfchen erst in älteren Zellen. Oberflächenvegetation, Typ III: Sect. Torulopsis st. (Will) Janke.

Keine Öltröpfchen. Zellen sehr klein und häufig flaschenförmig: Gen. Pityrosporum Sabouraud emend. Szilvinyi.

B. Es wird kein Pseudomyzel gebildet: B 5.

Es wird Pseudomyzel gebildet: B 6.

B 5. Alkoholische Gärung von Zuckerarten: Gen. Mycotorula Will. Keine solche: Gen. Mycoderma Pers. emend. Will.

B 6. Zellen spindelförmig zugespitzt: Gen. Pseudomycoderma Will. Zellen zuerst gedrungen, dann lang: B 7.

B 7. Kräftige Deckenbildung: Gen. Pseudomonilia Geiger. Keine solche: Gen. Blastodendrion Ota emend. Szilvinyi.

Wie bereits eingangs erwähnt, liegt eine weitere Schwierigkeit für die Bestimmung in der großen Variabilität der Organismen. In dieser Hinsicht ist vielleicht ein asporogener Sproßpilz von Interesse, der noch eine über das normale Maß hinausgehende Variabilität zeigt. Dieser wurde von Hautschuppen eines an einer Dermatitis erkrankten chinesischen Palasthündchens isoliert, dessen Herrin übrigens auch an Dermatitis erkrankte[1]). Dieser Organismus wurde durch Plattengußverfahren und Einzellkultur nach Lindner von einer begleitenden Oospora sp. getrennt und auf den nachfolgenden Nährböden gezüchtet betreffs deren Bereitung auf Janke-Zikes (1928) und Szilvinyi (1932) verwiesen sei. Die Messungen der Zellen wurden nach der von Janke (1928) vorgeschlagenen Methode durchgeführt. Zur Orientierung sei nur angeführt, daß die erhaltenen Werte: Mittelwert mit dem mittleren Fehler (M $\pm$ m), die Standardabweichung (s) als Maß für die Variationsbreite sowie die Mode (Mo) als häufigster Wert folgendermaßen auszuwerten sind: Das wahre Mittel liegt mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,955 (21 : 1) bei M $\pm$ 2 m; 95,5% der Varianten fallen in das Gebiet M $\pm$ 2 s; der häufigste Wert ist die Mode. Die als Indices angegebenen Zahlen z. B. Länge $_{100}$, geben die Anzahl der Individuen an, die der Messung unterworfen wurden.

Kultur in Würze: Nach 3 Tagen: Flüssigkeit getrübt, am Rand starke Ringbildung. Zellen vorherrschend von langer ovaler Form, seitlichsprossend. Nach 3 Wochen: Sehr starke Trübung, flockiger Bodensatz. Ältere Zellen durchwegs mit 1—2 Öltröpfchen.

Länge $_{100}$:	M = 4,288 $\pm$ 0,153 μ	Breite $_{100}$:	M = 2,8 $\pm$ 0,0385 μ
	s = $\pm$ 1,530 μ		s = $\pm$ 0,385 μ
	Mo = 4,38 μ		Mo = 2,8 μ

Kultur auf Würzeagar: Üppiges Wachstum. Kolonien schwach feuchtglänzend, gelblichweiß. Rand schwach gebuchtet, stufig mit angedeuteter radiärer Faltung. Ältere Kulturen (3 Wochen) wachsglänzend. Zellen dieses Alters meist mit einer in der Mitte gelagerten großen Vakuole.

Länge $_{100}$:	M = 7,67 $\pm$ 0,470 μ	Breite $_{100}$:	M = 1,98 $\pm$ 0,02 μ
	s = $\pm$ 4,704 μ		s = $\pm$ 0,2 μ
	Mo = 5,60 μ		Mo = 2,0 μ.

Kolonie in Bouillon: Nach 3 Tagen: Spärlicher, flockiger Bodensatz. Flüssigkeit sonst klar. Zellen rundlich bis oval. Nach 3 Wochen: Am Glas haftende kleine stecknadelkopfgroße Kolonien, die Zellen in diesen nie größer als 2 μ Durchmesser. Zellen im Bodensatz häufig starke Vakuolisierung, auch Kronenbildung.

Länge $_{100}$:	M = 5,468 $\pm$ 0,3952 μ	Breite $_{100}$:	M = 2,280 $\pm$ 0,0061 μ
	s = $\pm$ 3,952 μ		s = 0,0605 μ
	Mo = 5,6 μ		Mo = 2,25 μ.

[1]) Die Primärkultur verdanke ich Herrn Prof. David, dem ich auch an dieser Stelle dafür bestens danke.

Kolonie auf Bouillonagar: Nach 8 Tagen: Sehr spärliches Wachstum. Kolonie weißlich, feuchtglänzend. Rand schwach gebuchtet, etwas radiär gefaltet. Zellen rund, seltener rundlich. Nach 3 Wochen: Kultur unverändert.

$$\text{Durchmesser}_{100}: M = 2{,}420 \pm 0{,}136\ \mu$$
$$s = \pm 1{,}36\ \mu$$
$$Mo = 2{,}0\ \mu.$$

Kultur auf Glukose-Peptonagar: Nach 8 Tagen: Üppiges Wachstum. Kultur gelblichweiß, leicht erhaben, wachsglänzend. Rand schwach gebuchtet, leicht radiär gefaltet, stufig aufgebaut. Zellen rund

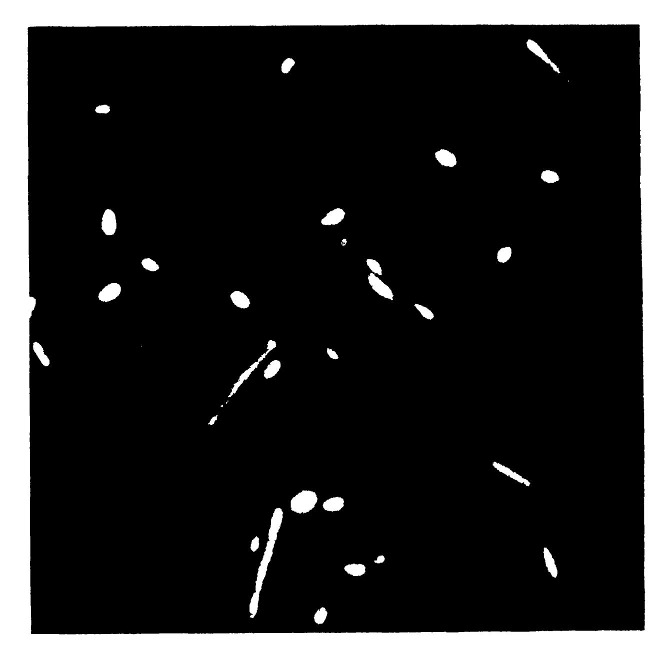


Abb. 1. Kultur auf Karotte. Tuschausstrich. Vergr. 1000×

bis eiförmig. Nach 3 Wochen: Den ganzen Rand der Kultur entlang erstrecken sich feine verzweigte Ausläufer im Agar. Mikroskopisch ist das Auftreten keilförmiger, seitlich sprossender Zellen typisch.

$\text{Länge}_{100}: M = 3{,}68 \pm 0{,}2065\ \mu$, $s = \pm 2{,}065\ \mu$, $Mo = 3{,}0\ \mu$

$\text{Breite}_{100}: M = 2{,}48 \pm 0{,}046\ \mu$, $s = \pm 0{,}455\ \mu$, $Mo = 2{,}5\ \mu.$

Kultur auf Czapek-Agar: Nach 8 Tagen: Sehr spärliches Wachstum. Kultur aus lauter winzig kleinen, kreisrunden, erhabenen Kolonien bestehend, welche ihr ein mehliges Äußere verleihen. Die einzelnen Zellen weisen ein bis mehrere Fetttröpfchen auf.

$\text{Länge}_{100}: M = 3{,}36 \pm 0{,}15\ \mu$, $s = \pm 1{,}51\ \mu$, $Mo = 3{,}3\ \mu$

$\text{Breite}_{100}: M = 2{,}33 \pm 0{,}169\ \mu$, $s = \pm 1{,}069\ \mu$, $Mo = 2{,}3\ \mu.$

Kultur auf Karotte: Nach 8 Tagen: Gutes Wachstum. Schwach erhabener, weißlichgelber Strich, feuchtglänzend mit gewelltem Rand. Zellen länglich, schmal, häufig auf einer Seite zugespitzt. Junge Zellen ohne alte stets mit Öltröpfchen in wechselnder Zahl. In extremen Fällen besonders im Kondenswasser ganz schmale stäbchenartige Zellen (Abb. 1).

Länge $_{100}$: M = 4 ± 0,1837 μ Breite $_{100}$: M = 2,12 ± 0,02 μ
s = + 1,837 μ s = ± 0,2 μ
Mo = 3,5 μ Mo = 2,0 μ.

Kultur auf Kartoffel: Spärliches Wachstum. Kultur feuchtglänzend, glasig. Die Zellen sehr ungleichmäßig, eiförmig bis rundlich. Die Riesenzellen mit sehr großen Vakuolen.

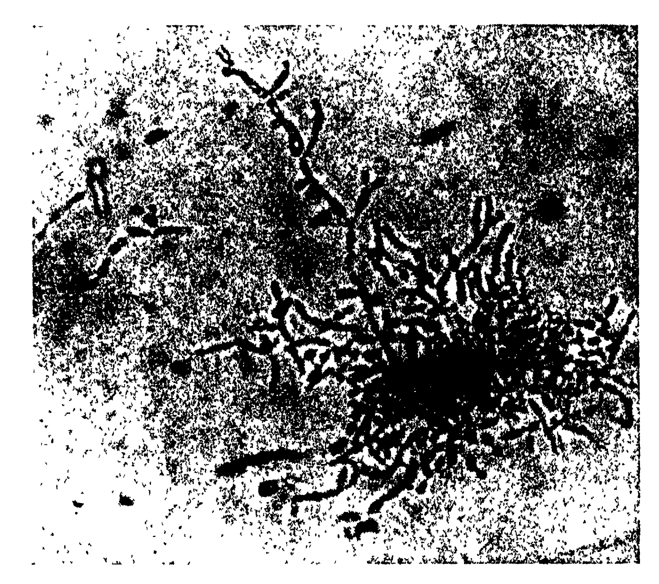


Abb. 2. Adhäsionskultur in Wöltje-Lösung. Vergr. 600×

Durchmesser $_{100}$: M = 2,78 ± 0,1449 μ
s = ± 1,449 μ
Mo = 2,34 μ.

Wachstum in Wöltje-Lösung: Flüssigkeit klar, Bodensatz pulverig. Es treten sowohl Sproßverbände wie Kronenbildung auf. Zellen rund bis eiförmig. In Adhäsionskultur stets Pseudomyzelbildung (Abb. 2).

Durchmesser $_{100}$: M = 4,802 ± 0,151 μ
s = ± 1,513 μ
Mo = 5,56 μ.

Kultur in Hefewasser: Flüssigkeit getrübt. Am Glas Ringbildung sowie kleine, am Glas haftende kreisrunde Kolonien, Bodensatz flockig. Zellen meist rund, es treten auch Sproßverbände und Kronenbildung auf. Bei älteren Kulturen wird eine kräftige Decke gebildet, welche beim Schütteln untersinkt.

Durchmesser $_{100}$: M = 2,66 ± 0,166 μ
s = ± 1,66 μ
Mo = 3,0 μ.

Kultur in Peptonwasser: Wie Hefewasser, nur schwächeres Wachstum.

$$\text{Durchmesser}_{100}\text{: } M = 2{,}29 \pm 0{,}1309\ \mu$$
$$s = \pm 1{,}309\ \mu$$
$$Mo = 2{,}0\ \mu.$$

Kultur in Milch: Bloß sehr spärliches Wachstum. Keine Veränderung des Substrates.

Kultur in Lackmusmilch: Wie Milch.

Kultur auf Würzegelatine: Keine Verflüssigung, sonst wie auf Würzeagar.

Kultur auf Bouillongelatine: Keine Verflüssigung, sonst wie Bouillonagar.

Kultur auf Gorodkowa-Agar: Verhältnismäßig üppiges Wachstum. Kultur wachsglänzend, schwach erhaben. Leicht gebuchteter Rand. Zellen elliptisch ohne Öltröpfchen. Keine Askosporenbildung.

Kultur am Gipsblock: Keine Askosporenbildung.

Gärvermögen: Glukose, Mannose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Maltose und Dextrin werden nicht vergoren.

Wie aus den Beschreibungen ersichtlich, zeigt der Organismus einen ausgesprochenen Pleomorphismus und es besteht daher die Möglichkeit, ihn an sehr verschiedenen Stellen des Systems einzuordnen.

Würze flüssig:	Genus	Torulopsis,	Sectio	Torulopsis	s.	st.
Würzeagar:	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Bouillon:	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Bouillonagar:	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Hefewasser:	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Czapek-Agar:	,,	,,	,,	Eutorulopsis		
Karotte:	Genus	Pityrosporum				
Wöltje-Lösung:	Genus	Blastodendrion.				

Da für die systematische Einteilung zumeist die höchst differenzierte Form als maßgebend betrachtet wird, ist der untersuchte Organismus der Gattung Blastodendrion zuzuordnen, seiner Herkunft entsprechend soll er als Bl. canis bezeichnet werden.

Blastodendrion canis nov. sp.

Cellularum forma et magnitudo valde variabilis et compositione substrati subiecta, plerumque rotundae vel ellipticae hinc inde bacillares. In statu maturo corpora oleosa continentes. In umore sedimentum et annulum formantes, cutis nulla. Conditionibus opportunis pseudomycelium facientes. Coloniae albae vel flavescentes, parvum tumescentes. In margine parvulum sinuosae vel rugosae. Fermentatio alcoholica nulla.

Die Grundlage einer jeden Bestimmung und von bleibendem Wert, auch wenn später die systematische Stellung des Organismus geändert werden sollte und dessen Wiedererkennen verbürgend, ist die einwandfreie Beschreibung desselben in reingezüchtetem Zustand auf verschiedenen Nährböden, eine Forderung, welche bereits von Ciferri und Redaelli (1929) erhoben wurde. Die genannten Autoren fordern zur Identifizierung und zum Studium der Torulopsidaceae die Einhaltung eines umfangreichen Schemas. Bei Überprüfung eines ziemlich großen Materials (90 Stämmen) zeigte sich, daß zur Diagnose die bei Blastodendrion

canis angewandte einfachere Methodik genügt; doch wird es wohl zweckmäßig sein, die zu verwendenden Substrate usw. durch eine Vereinbarung, ähnlich wie in der Bakteriologie, zu regeln.

Zusammenfassung.

1. Fußend auf den Klassifikationen von Janke sowie Ciferri und Redaelli wird unter Berücksichtigung neuerer Ergebnisse ein System der asporogenen Sproßpilze vorgeschlagen, welches unter Vermeidung jeder Doppelbezeichnung sowohl dem Botaniker wie dem Mediziner gerecht wird; als maßgebend für die Zugehörigkeit eines Organismus zu den asporogenen Sproßpilzen wird nebst Fehlen der Hauptfruchtform das Fehlen jeden echten Myzels gefordert.

2. An einem ungewöhnlich variablen Organismus Blastodendrion canis nov. sp. wird gezeigt, daß zur Bestimmung der hierher gehörigen Organismen deren Beobachtung auf einer Reihe von Nährböden notwendig ist; als maßgebend für die systematische Stellung eines Organismus wird die höchst differenzierte Form betrachtet.

3. Es dürfte zweckmäßig sein, die zu verwendenden Substrate durch eine Vereinbarung festzulegen; in Vorschlag werden gebracht: Würze flüssig, Würzeagar, Bouillon, Bouillonagar, Hefewasser, Czapek-Agar, Karotte, Wöltje-Lösung.

Literaturverzeichnis.

Benedek, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 116. 1930. S. 317—330. — Berlese, Giorn. Vitric. Avellino. 1894. p. 54. — Beurmann, de, et Gougerot, Les mycoses. Traité de médecine et de Thérapeutique de Gilbert et Thomas. Paris (Baillière) 1910. — Bruhns und Alexander, Grundriß der mykologischen Diagnostik. Berlin (Springer) 1932. — Buschke-Joseph, Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadassohn. 1928. — Chaborski, Bull. Soc. bot. de Genève. Vol. 11. 1919. p. 70—116. — Castellani, Fungi and Fungous diseases American Medical Association. Chicago 1926. — Castellani, Amer. Journ. Trop. Med. Vol. 8. 1928. p. 379—422. — Catanei, Sept. Reun. Soc. Argentin de Patol. del Norte. An. 1. 1932. p. 222—226. — Ciferri, Atti del R. Instituto Botanico del Università di Pavia 1925. p. 129—146. — Ciferri, Ann. Mycol. An. 28. 1930. p. 372—376. — Ciferri e Redaelli, Ann. Mycol. An. 27. 1929. p. 243—295. — Ciferri e Readelli, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 40—55. — Cossery, Journ. Egypt. Med. Assoc. Vol. 13. 1930. p. 198—206. — Desmazières, Ann. Sci. Nat. Bot. Sect. 3. An. 16. 1826. p. 319. — Geiger, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 27. 1910. S. 97—149. — Guilliermond, Clef dichotomique pour la détermination des levures. (Bibl. le Françcis. 1928.) — Guilliermond and Tanner, The yeasts. Baltimore (Wiley and Sons) 1920. — Hammerschlag, Wiener klin. Wochenschr. 1933. S. 43—46. — Hansen, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Bd. 1. 1879. — Hansen, C. r. de Carlsberg. 1888. — Janke, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 59. 1923. S. 309. — Janke, Allgemeine technische Mikrobiologie. I. Dresden und Leipzig (Steinkopf) 1924. — Janke, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 76. 1928. S. 161. — Janke, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 74. 1928. S. 26—44. — Janke-Zikes, Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Dresden und Leipzig (Steinkopf) 1928. — Kloecker, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 43. 1912. S. 369—419. — Kluyver, Annal. de Zymologie. Sér. II. Vol. 1. p. 48—61. — Lindau in Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 1. 1904. S. 173—174. — Lindau, Die mikroskopischen Pilze. II. Aufl. Berlin (Springer) 1922. — Lindner, Ber. d. Dtsch. Botan. Ges. 1913. S. 364—368. — Loubière, Thèse de doctorat ès sciences. Paris 1924. — Meyer, Zeitschr. klin. Med. Bd. 121. 1932. S. 247—262. — Ninó and Perez, Sept. Réun. Soc. Argentin de Patol. del Norte. Vol. 1. 1932. p. 413—433. — Ota, Dermatol. Wochenschr. Bd. 78. 1924. S. 216—264. — Ota, Japanese Journ. Dermat. Urology. Vol. 28. 1928. p. 4. — Pasteur, Etudes sur

la bière. Paris 1876. — Persoon, Mycologia Europea Erlangen Palm 1822. — Pribram, Journ. Infect. Dis. Vol. 47. 1930. p. 1—10. — Sabouraud, zit. nach Bruhns und Alexander. — Sartory, Sartory, Weill et Meyer, Compt. rend. Acad. Sc. T. 194. 1932. p. 1688—1690. — Seiler, Centralbl. f. Bakt., Abt. 1. Bd. 126. S. 404—414. — Szilvinyi, Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 135—139. — Thomson, Ann. Chem. An. 83. 1852. p. 81. — Urbach und Zach, Arch. f. Dermatologie u. Syphilis. Bd. 162. 1930. S. 401—421. — Vuillemin et Jannin, Les „Mycoderma" leur rôle en pathologie. Thèse de Nancy. Nr. 1001. 1913. — Will, Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 10. 1903. S. 689—700, 604—614, 693—711; Bd. 17. 1907. S. 1—3, 3—8, 75—90, 137—146, 331—344, 428—445; Bd. 21. 1908. S. 386—392; Bd. 28. 1910. S. 1—37; Bd. 34. 1912. S. 1—35. — Windholz, Beitr. path. Anat. Bd. 83. 1929. S. 501. — Winslow, Journ. Bact. Vol. 2. 1917. p. 552; Vol. 5. 1920. p. 191—229. — Zimmer, Weill, Sartory und Meyer, Arch. f. Dermatol. Bd. 167. S. 213 bis 221.

Warum, wie und wo muß für den Keimgehalt des Hackfleisches ein Grenzwert festgelegt werden?

[Aus der Hygienischen Untersuchungsstelle des Wehrkreises I.]

Von Oberstabsarzt Dr. **Brekenfeld.**

In einer Arbeit „Über den Keimgehalt des käuflichen Hackfleisches" schreibt Eugen Mayer 1901: „Der Keimgehalt im Fleisch gibt ein Kriterium für die Unreinlichkeit, mit der in einem Betriebe gewirtschaftet wird, oder für die Art des Materials, welches zu Hackfleisch verwertet wird, oder über die Dauer der Aufbewahrung . . . Es ist schwer, einen Grenzwert aufzustellen, . . . zum mindesten ist hierzu noch eine große Zahl Untersuchungen nötig. Der Keimgehalt spielt beim Hackfleisch vielleicht einmal dieselbe Rolle, wie bei Wasseruntersuchungen". Hackfleischuntersuchungen sind seitdem in großer Zahl ausgeführt. Den Grenzwert, welcher Eugen Mayer vor 32 Jahren vorschwebte, haben wir noch nicht gefunden. Zwei Gründe können hierfür maßgebend sein: Erstens das Fehlen einer Notwendigkeit für einen Grenzwert und zweitens das Versagen der Technik. Liegt eine Notwendigkeit für einen Grenzwert vor? Hierauf gibt die große Zahl jährlicher Erkrankungen und Todesfälle nach Hackfleischgenuß eine unzweideutige Antwort. Nach einer Zusammenstellung von G. Mayer entstanden in den Jahren 1874—1909 von 174 Vergiftungsepidemien 34 nach Hackfleischgenuß. Daß in diesem Zeitraum nur ein ganz geringer Teil der tatsächlich vorgekommenen Erkrankungen nach Hackfleischgenuß amtlich erfaßt ist, dürfte zweifelsfrei sein. Dasselbe gilt für die Zusammenstellung von Kuppelmeyer, der etwa 210 Erkrankungsfälle für die Jahre 1913—22 anführt. Aus dem Reichsgesundheitsamt berichtet Meyer für die Jahre 1923—25 über zusammen 6553 Erkrankungs- und Todesfälle durch Fleischvergiftung in Deutschland. 53,4% dieser Erkrankungen und 30,8% der Todesfälle waren die Folge von Hackfleischgenuß. Nach Klimmeck waren für Preußen in den Jahren 1924 und 25 von 107 Fleischvergiftungsepidemien 46,7% auf Hackfleisch zurückzuführen. 1926—28 verzeichnet Meyer im Reichsgesundheitsblatt für das Deutsche Reich an Hackfleischvergiftungen:

1926: 41,7% der Fleischvergiftungen,
54,9% ,, Erkrankungen,
29,4% ,, Todesfälle.
1927: 48,2% der Fleischvergiftungen,
68,9% ,, Erkrankungen,
14,8% ,, Todesfälle.
1928: 34,6% der Fleischvergiftungen,
39,5% ,, Erkrankungen,
44,4% ,, Todesfälle.

Fleischvergifter wurden bei den Hackfleischvergiftungen nachgewiesen:

1926 in 57% 1927 in 54% 1928 in 40%

Im Durchschnitt der Jahre 1923—28 sind auf Hackfleisch $\frac{1}{3}$ aller Todesfälle durch Fleischvergiftung, über $\frac{1}{3}$ aller Fleischvergiftungen überhaupt und über die Hälfte aller Erkrankungen an Fleischvergiftung zurückzuführen. Schließlich verzeichnet derselbe Autor für 1929 und 30: 55 Hackfleischvergiftungen, bei denen nur in 46 Fällen der Erreger nachgewiesen werden konnte.

Endlich führen Stang und Wirth in ihrem Lehrbuch der Tierheilkunde an, daß die Hackfleischvergiftungen mehr als die Hälfte der bei Menschen nach Fleischgenuß aufgetretenen Massenerkrankungen betragen.

Diese Statistiken der Fleischvergiftungen der letzten Jahre zeigen uns, daß bei weitem nicht in allen Fällen der Vergiftungen Fleischvergifter als Urheber der Erkrankungen nachgewiesen werden konnten. In einer großen Prozentzahl der Fälle handelt es sich nicht um spezifische Krankheitserreger oder Giftbildner als Urheber der Erkrankungen, vielmehr fraglos um bakterielle Zersetzungen des Hackfleisches durch Fäulniserreger oder Saprophyten irgendwelcher Art. Einem so beschaffenen Fleisch trägt die Gesetzgebung durchaus Rechnung. Nach den Kommentaren zum Lebensmittelgesetz muß Fleisch als gesundheitsschädlich angesehen werden, bezüglich dessen der wissenschaftlich begründete Verdacht besteht, daß es die Gesundheit des Konsumenten schädigen kann. Wer wollte nach dem Gesagten das Bestehen eines solchen wissenschaftlich begründeten Verdachtes bei bakteriell stark durchsetztem Hackfleisch in Abrede stellen!

Die Saprophyten kann man nun zwar mit den üblichen Kulturmethoden nachweisen, indessen läßt ein solcher Nachweis nicht ohne weiteres auf eine bakterielle Durchsetzung des Fleisches schließen. Ein solcher Schluß ist nur möglich mit Hilfe der Bakterioskopie von Schnittpräparaten. Wann aber ist Hackfleisch bakteriell so durchsetzt, daß es als verdorben oder gesundheitsschädlich bezeichnet werden muß? Diese Frage muß notwendig beantwortet werden; sie in diesem Zusammenhang stellen, heißt zugleich die Frage, ob die Festlegung eines Grenzwertes nötig ist, bejahen.

Auch in vielen derjenigen Fälle, in welchen ein spezifischer Fleischvergifter nachgewiesen werden konnte, wird die Erkrankung mit großer Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen sein, daß sich die zunächst einzeln im oder am Fleisch vorhandenen Krankheitserreger durch zu langes Lagern des Hackfleisches zusammen mit Saprophyten so stark in demselben vermehren konnten, daß erst dadurch eine Erkrankung bewirkt wurde. Es unterliegt heute wohl kaum noch einem Zweifel, daß der Genuß einzelner Bakterien aus der Paratyphus-Gärtnergruppe im allgemeinen für den Menschen unschädlich ist. Verhindert man durch scharfe Kontrolle nach Festlegung eines Grenzwertes ein zu langes Aufbewahren von Hackfleisch und somit eine zu starke Vermehrung der Keime, so wird man in

zahlreichen Fällen auch den Verkauf von Hackfleisch verhindern, in welchem sich neben den Saprophyten Krankheitskeime in verderbenbringender Weise vermehrt haben. Daß Polizeiverordnungen hier zwar Besserung zu bringen vermögen, aber nicht ausreichend sind, ist jedem Praktiker auf dem Gebiet der Lebensmittelkontrolle bekannt und jederzeit durch Untersuchungen zu beweisen. Notwendig erscheint es endlich, den Mut und Willen aufzubringen, auf Grund systematischer Untersuchungen einen Grenzwert festzulegen, d. h. eine durchschnittliche Bakterienzahl je Gesichtsfeld in Schnittpräparaten bzw. je 1 g nach der Keimzählmethode zu bestimmen, welche nicht überschritten werden darf und bei sauberer Gewinnung von Hackfleisch aus einwandfreiem Material auch nie überschritten werden wird. Es ist hier eine Parallele mit der Begutachtung von Milch durchaus berechtigt. Die Amerikaner bestrafen rücksichtslos den Verkäufer von Milch von einem bestimmten Keimgehalt an. Wir sind ihnen wenigstens jetzt mit der Vorzugsmilch in diesem Vorgehen gefolgt. Durch Erziehung und Aufklärung des Produzenten, sowie durch rücksichtslose Bestrafung des Unbelehrbaren oder Verbrechers an der menschlichen Gesundheit läßt sich hier alles erreichen, weil es eben tatsächlich zu erreichen ist. So ist es auch mit der Gewinnung von gutem Hackfleisch, so mit der Herstellung einwandfreier, bakterienarmer Wurstwaren. Für diese habe ich den Beweis, daß die Lieferung bakterienarmer Ware möglich ist, in früheren Arbeiten erbracht, ihn auch für jenes zu erbringen, ist eine der Aufgaben dieser Arbeit. Die Notwendigkeit für die Festsetzung eines Grenzwertes für Hackfleisch liegt nun nicht allein im Interesse der Krankheitsverhütung, sie wird schon ausreichend begründet durch allgemein hygienische Belange. Es ist erstaunlich, wie vollkommen die Betriebshygiene in vielen großen Lebensmittelfabriken ist, es ist aber noch erstaunlicher, wie unhygienisch es in vielen Schlachtereibetrieben hergeht, angefangen vom Fleischtransport bis zur Wursterei und Hackfleischbereitung. Nach Stang und Wirth wird Hackfleisch u. a. vor allem hergestellt aus Fleischabschnitten und sog. Abputzfleisch, das beim Fleischverkauf abfällt und nicht zu Wurst verarbeitet wird. Zu diesem Abputzfleisch gehört nach meinen eigenen Erfahrungen auch der durch Schaustellung unansehnlich gewordene Fleischanteil, der häufig besonders stark bakteriell durchsetzt ist. Diese Abfälle dienen der Hackfleisch- oder Wurstbereitung. Das ist unhygienisch, ekelerregend und daher unzulässig. Das muß immer wieder mit aller Deutlichkeit festgestellt werden, weil es nicht nur von sehr zahlreichen Schlachtern als gutes Recht empfunden wird, derartige Abfälle zu Hackfleisch oder Wurst zu verarbeiten, sondern weil auch bei manchen Aufsichtsorganen hierüber Unklarheiten herrschen. v. Ostertag nimmt zu einem in letzter Zeit vor Gericht verhandelten Fall wie folgt Stellung: „Die Wiederverarbeitung von fertigen Wurstfabrikaten sowie Wurstabfällen, die bereits zum Verkauf gestellt waren, ist unzulässig. Nur Würste mit Formfehlern dürfen bis zum nächsten Tage verarbeitet werden. Nicht verkaufte Würste sollen als Abfälle oder auf der Freibank verkauft werden. Die Neuverarbeitung von fertigen Wurstfabrikaten sowie von Wurstabfällen ist Verfälschung.“ Was v. Ostertag hier von der Wurst sagt, gilt in derselben Weise für die Herstellung von Hackfleisch. Ebensowenig wie Wurstabfälle zu Wurst, dürfen Fleischabfälle zu Hackfleisch oder Wurst verarbeitet werden, es sei denn, daß die Ware als solche deklariert wird.

In derselben Gerichtssache sagt ein Fleischwarenfabrikant als Sachverständiger folgendes: „Der Käufer hat auf alle Fälle einen Anspruch auf

einwandfreies Rohmaterial auch bei der billigen Wurst. Alte Ware darf nicht wieder verarbeitet werden. Die Masse, aus der die Wurst hergestellt wird, darf nicht minderwertig sein.“ Auch diese Stellungnahme trifft erst recht für die Herstellung von Hackfleisch zu.

Die Feststellung eines Grenzwertes bei Hackfleisch ist somit auch notwendig, weil ein solcher allein den Nachweis gestattet, daß nicht mehr einwandfreies Rohmaterial zu Hackfleisch verarbeitet wurde. Mit dieser Methode wird die Hygiene des Schlachterbetriebes an einer empfindlichen Stelle kontrolliert. Sie schließt eine klaffende, nicht mehr zeitgemäße Lücke in der Nahrungsmittel- und Betriebskontrolle. Sie ist ein unfehlbares Mittel, allen unsauberen Elementen das Handwerk zu legen und wirkt — richtig angewandt — erzieherisch.

Nachdem wir die Frage nach der Notwendigkeit eines Grenzwertes für Hackfleisch bejaht haben, kommen wir zu der zweiten Frage: Gestattet uns die Technik, einen Grenzwert festzulegen? Zwei Grenzwerte sind denkbar: Erstens eine Höchstkeimzahl, je 1 g errechnet nach der üblichen Keimzählmethode, zweitens eine Keimhöchstzahl je Gesichtsfeld in Schnittpräparaten.

Will man mit der kulturellen Keimzählmethode auch nur annähernd die Keimzahl pro 1 g feststellen, ist die Anlage je einer Aerobier- und Anaerobierplatte bei 37 oder 22° notwendig. Mit ihnen erfaßt man aber noch nicht die Keime, welche bei den betreffenden Temperaturen und Nährböden nicht wachsen und die bereits abgestorbenen oder nicht mehr entwicklungsfähigen Bakterien. Es besteht ferner die Gefahr der Doppelzählung, da fakultative Anaerobier, die auf aeroben und anaeroben Platten wachsen, nicht selten sind. Die Wahrscheinlichkeit der Doppelzählung steigt, wenn man je eine Platte bei 22 und 37° bebrütet, weil auch hier eine große Zahl derselben Keime auf beiden Platten wachsen würde. Schließlich ist daran zu denken, daß nicht immer eine Kolonie nur einem Keim entspricht und ferner, daß sowohl Verunreinigungen von außen her bei der Verarbeitung als auch auf den Platten selbst denkbar sind. Jedenfalls wird es schwer sein, die Möglichkeit solcher Verunreinigungen vor Gericht unter Sachverständigeneid als ausgeschlossen zu bezeichnen. Die Fehlerquellen sind somit bei der Keimzählmethode zahlreich. Es besagt wenig, wenn sie einen geringen Keimgehalt anzeigt. Sie ist indessen immerhin zu verwerten, wenn sie bei Verwendung einer aeroben Agarplatte einen hohen Keimgehalt ergibt. Es läßt sich fraglos empirisch feststellen, welcher Keimgehalt pro 1 g bei einwandfrei gewonnenem, aus einwandfreiem Material hergestellten frischen Hackfleisch nach der üblichen Keimzählmethode ungünstigenfalls nie überschritten wird. Ich möchte diesen Grenzwert der Einfachheit halber den kulturellen nennen, im Gegensatz zu dem bakterioskopischen der Schnittpräparate. Bei diesem sind Fehlerquellen kaum vorhanden. Wir wissen aus der Histologie gesunder und kranker Organe, ein wie getreues Spiegelbild die sachgemäß hergestellten und gefärbten Schnittpräparate von der Zusammensetzung und dem Krankheitsablauf eines Gewebes geben. Wir kennen die Präparate, die die Durchsetzung eines Organteils mit Bakterien, z. B. Tuberkelbazillen, in bester Weise zum Ausdruck bringen. Warum soll eine solche Methode nicht auch zum Nachweis bakterieller Durchsetzung von Fleischwaren ebenso fehlerlos arbeiten? Die Präparate werden nach meinen Erfahrungen sogar lückenloser, ich möchte sagen, absolut naturgetreu, weil keine pathologischen Produkte der Schnittmethode Schwierig-

keiten bereiten bzw. dabei herausfallen und Lücken ergeben. Ich habe bei den Tausenden von Schnitten, die ich von Wurst- und Fleischwaren durchgemustert habe, vergeblich versucht, eine Fehlerquelle von Belang zu finden. Wohl gibt es Wurstsorten, die sich schlecht schneiden lassen; Hackfleisch, welches fehlerhafte oder schlechte Schnitte ergibt, habe ich noch nicht erlebt. Die Bakterioskopie der Fleischwaren, also auch des Hackfleisches, zeigt den Grad einer bakteriellen Durchsetzung des Gewebes in naturgetreuester Weise. Es kann der Einwand gemacht werden, daß bei diesem oder jenem Schnitt bei der Fertigstellung Gewebsteilchen herausbrechen und verlorengehen können. Wenn man — wie ich es zu tun pflege — aus 3 verschiedenen Stückchen der Probe je 10 nicht hintereinander liegende Schnitte anfertigt und von jedem Schnitt 5 verschiedene Gesichtsfelder durchmustert, von einer Hackfleischprobe also 150 Gesichtsfelder auszählt, so kann jenem Einwand keine Bedeutung beigemessen werden. Bei einer solchen bakterioskopischen Zählmethode ist die Fehlerquelle gleich Null. Die bakterioskopisch gewonnene Keimzahl je Gesichtsfeld enthält in gleicher Weise Aerobier, Anaerobier und nicht mehr entwicklungsfähige Keime, also alles was an Bakterien im Untersuchungsmaterial vorhanden ist. Sie ist somit der kulturellen Keimzählmethode überlegen. Eine Fehlerquelle könnte beiden gemeinsam sein. In seltenen Fällen wird jede der Methoden dann ein ungetreues Bild von dem Bakteriengehalt der Fleischware geben, wenn zufällig alle 3 Probestücke aus Teilen stammen, die ausnahmsweise viel oder wenig Keime im Verhältnis zu der übrigen Masse enthalten. Es wird ein jeder zugeben müssen, daß diese Fehlerquelle bei Entnahme von 3 Probestückchen aus ganz verschiedenen Teilen des Untersuchungsgutes außerordentlich gering und als Fehlerquelle praktisch nicht zu werten ist, besonders dann nicht, wenn die bakterioskopische und kulturelle Keimzählmethode nebeneinander zur Anwendung kommen, somit also Fleischstückchen aus wenigstens 6 verschiedenen Stellen untersucht werden. Wir können hiernach sagen, daß die Technik es leicht ermöglicht, von der bakteriellen Durchsetzung einer Fleischware ein absolut naturgetreues Spiegelbild zu erhalten, gegen welches vor allem dann überhaupt nichts einzuwenden ist — und das ist das Wesentliche —, wenn eine starke bakterielle Durchsetzung durch die Bakterioskopie sichergestellt ist. Eine so angezeigte bakterielle Durchsetzung kann nicht durch eine nachträgliche Verunreinigung bedingt oder ein Kunstprodukt sein, sie ist vielmehr der wahre Zustand der untersuchten Ware. Nur bei Fehlen von Bakterien in den Schnittpräparaten kann es sein, daß zufällig in dem untersuchten Stückchen Keimarmut herrscht, daß aber der größte Teil der Fleischmasse stark bakteriell durchsetzt ist. Es ist gezeigt worden, wie diese Zufälligkeit auszuschalten ist; es sei noch darauf hingewiesen, daß praktisch ein Schaden durch solchen Fehlschluß nicht entsteht, nur geht ein zu Verurteilender straffrei aus; diesen Vorteil aber hat er bei den jetzt üblichen Untersuchungsmethoden in Ermangelung eines Grenzwertes für den Keimgehalt des Hackfleisches immerfort, sofern überhaupt „nur" eine bakterielle Durchsetzung mit Saprophyten festgestellt wird.

Es steht somit unzweideutig fest, daß heute kein Grund mehr vorhanden ist, der Feststellung eines Grenzwertes für Hackfleisch aus dem Wege zu gehen.

Für die Herstellung der Schnittpräparate hat sich mir die Paraffineinbettungsmethode am besten bewährt. Ich wende die in der Histologie allgemein übliche an, wie ich sie in meiner Arbeit über „die Bedeutung der

Schnittpräparate für den Bakteriologen“ ausführlich wiedergegeben habe. Bakterienfärbung mit Methylenblau eine halbe Stunde; Schnittstärke etwa 10 Mikron. Zur schnellen Orientierung ist die Gefrierschnittmethode zuverlässiger und naturgetreuer als ein Klatsch- oder Quetschpräparat, die indessen immer einen gewissen Wert behalten werden. Die Gefriermethode kann gleichfalls zur Feststellung des Grenzwertes herangezogen werden. Nach meinen Erfahrungen gelingt es aber mit ihr nicht immer, in demselben Ausmaß den Bakteriengehalt festzustellen wie mit der Paraffinmethode. Man muß bei ihr damit rechnen, daß man diese oder jene Hackfleischprobe bezüglich des Keimgehaltes zu günstig beurteilt. Dem Gelatineeinbettungsverfahren ist nach den von mir angestellten Parallelversuchen das Paraffinverfahren überlegen, soweit es sich um Sichtbarmachen und Auszählen der Bakterien handelt. Nach einer anderen Richtung hin habe ich die beiden Methoden nicht miteinander verglichen. Wenn einige Autoren angeben, daß selbst für einen Geübten die Feststellung der Keimzahl in einem Schnitt bisweilen Schwierigkeiten macht, so mag das vielleicht daran liegen, daß sie das Gelatine-, ich das Paraffinverfahren bevorzuge. Bezüglich des Gelatineverfahrens gebe ich ihnen recht. Beim Paraffinverfahren dagegen habe ich Schwierigkeiten in der Auszählung der Bakterien nur bei sehr starker bakterieller Durchsetzung gehabt. In meiner Arbeit: „Die Bakterioskopie der Fleischwaren usw.“ liefern die darin veröffentlichten Mikrophotogramme den besten Beweis für die Brauchbarkeit des Paraffinverfahrens zur Sichtbarmachung der Bakterien. Sind mehr als 50 Keime im Gesichtsfeld vorhanden, spielt es für die Bewertung keine Rolle, ob man statt 100 nur 80 oder statt 200 nur 150 zählt. Wichtig ist alsdann nur, daß man sicherheitshalber zu wenig als zu viel zählt, um diesen Zahlenwert mit gutem Gewissen im Gutachten verwerten zu können. Ich möchte es indessen bei meinen eigenen geringen Erfahrungen mit dem Gelatineverfahren offen lassen, ob sich nicht auch mit ihm ein einwandfreies Sichtbarmachen der bakteriellen Durchsetzung erzielen läßt. Alsdann mag es dem Belieben des Untersuchers überlassen bleiben, das eine oder das andere Verfahren zu wählen.

Im einzelnen bin ich bei der Feststellung der durchschnittlichen Keimzahl je Schnitt bzw. Gramm folgendermaßen vorgegangen[1]): Von 100 verschiedenen Schlachtern der Stadt Königsberg (Pr.) wurden in der Zeit vom 1. 11. 32 bis 16. 3. 33 in den Morgenstunden $^1/_8$ Pfund Rinderhackfleisch gekauft. Beim Einkauf wurde festgestellt, ob die verlangte Ware von einer bereits fertig vorhandenen Hackfleischmasse genommen, ob von einem Stück Fleisch eine entsprechende Menge abgeschnitten und durchgedreht oder ob schließlich zur Herstellung Gulaschfleisch benutzt wurde. Sofort nach Eintreffen in der Untersuchungsstelle wurde das Hackfleisch mit einem sterilen Spatel gut durchgeknetet, was zur Erzielung eines Durchschnittswertes unbedingt notwendig ist und alsdann aus 3 verschiedenen Stellen je ein Kloß herausgenommen. Von jedem Kloß wurde darauf 1 g auf steriler Unterlage abgewogen und der Rest in 10% Formalin eingelegt, um später nach der Paraffinmethode geschnitten zu werden. Die abgewogenen Fleischproben zu je 1 g wurden 20 Min. lang in einer sterilen Glasperlenflasche mit 50 ccm Nährbouillon geschüttelt, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und schließlich mit 10 ccm auf 40° C abgekühlten Agar

[1]) Der techn. Assistentin der Hyg. Untersuchungsstelle, Fräulein Martha Bieber, danke ich an dieser Stelle für ihre fleißige, zuverlässige Hilfe bei der Anfertigung der Schnitte u. a. m. ganz besonders.

vermischt und in Petrischalen ausgegossen. Die Auszählung der Keime erfolgte nach 48stünd. Bebrütung bei 37° mit Hilfe von Lupe und Zählplatte. Entsprechend der Verdünnung wurde dann die Keimzahl je 1 g errechnet.

Zur Feststellung der durchschnittlichen Keimzahl je Gesichtsfeld im Schnittpräparat wurden von jedem der 3 in Formalin gebrachten Klößchen je 10 Schnitte von etwa 10 μ Dicke angefertigt, so daß von jeder Hackfleischprobe 30 Schnittpräparate durchgemustert wurden. Um auch hier möglichst viel verschiedene Stellen zu erfassen, wurden nicht hintereinander anfallende Schnitte zur Färbung ausgewählt; wir ließen zwischen je 2 auserwählten Schnitten mehrere ausfallen. Von jedem Schnitt wurden 5 Gesichtsfelder möglichst verschiedener bakterieller Durchsetzung ausgezählt, wobei natürlich auch bakterienfreie Gesichtsfelder berücksichtigt wurden. Auf diese Weise gelangten von jeder der 100 frischen Hackfleischproben 150 Gesichtsfelder aus den verschiedensten Stellen zur Auszählung, und zwar bei 800-facher Vergrößerung (Linsensystem Leitz, Objektiv $^1/_{12}$ Ölimmersion, Okular 8×Periplan). Es kann kaum geleugnet werden, daß es so gelang, ein möglichst naturgetreues Bild von dem Grade der bakteriellen Durchsetzuug zu erhalten und Zufälligkeiten praktisch auszuschalten. Aus der Summe der Keime in 150 Gesichtsfeldern ließ sich leicht die Durchschnittskeimzahl je Gesichtsfeld errechnen.

Bei der großen Bedeutung der von mir gestellten drei Fragen durfte ich mich nun nicht damit begnügen, nur frisches Hackfleisch nach den beiden Methoden zu untersuchen. Gelegentlich der Besichtigung von 48 Schlachtereibetrieben in einem Landkreis Ostpreußens im Juli 1930 und dort entnommener Fleisch- und Wurstproben konnte mehrfach festgestellt werden, daß Hackfleisch in Eisschränken aufbewahrt wurde, offenbar zu dem Zweck, es auf diese Weise „frisch“ zu erhalten und es selbst noch nach 1—2 Tagen, vielleicht vermischt mit frisch hergestelltem, zu verkaufen. Ein solches Vorgehen ist den in der Lebensmittelkontrolle stehenden Beamten keineswegs unbekannt. Trotz allen Polizeivorschriften wird gerade auf diesem Gebiet von einzelnen Schlachtern immer wieder gesündigt. Es war also noch die Frage zu beantworten, wie sind die Ergebnisse der Kultur- und Schnittmethode bei Hackfleisch, welches 24 Std. im Eisschrank aufbewahrt worden ist? Für den Bakteriologen ist es ohne weiteres klar, daß sich hier die Zahl der übereinstimmenden Ergebnisse verschieben muß. Die Bakterien, welche das Hackfleisch durchsetzen, sind bei Zimmer- und Eisschranktemperatur verschieden. Die Kältebakterien können zwar mit der Schnittmethode sichtbar gemacht werden, kommen aber überwiegend bei der Kulturmethode nicht zur Entwicklung. Man weiß auch beim frisch gekauften Hackfleisch, sofern es im Schlachterladen vorrätig ist, nicht, ob es ganz oder teilweise über Nacht im Eisschrank gestanden hat. Man kann die gegossenen Platten bei 37 oder 22° bebrüten, aber, wie oben gezeigt wurde, ein Bebrüten je einer Platte bei beiden Temperaturen der Fehlerquellen wegen nicht verwerten. Weil ein großer Teil der Kältebakterien bei 22 oder 37° nicht zur Entwicklung kommt, stimmen die Zahlen von Schnitt- und Kulturmethode bei Hackfleisch, das 24 Std. im Eisschrank gestanden hat, nur in 65% der Fälle überein, worauf ich später noch zurückkomme, während es bei sofort verarbeitetem, frisch gekauftem Hackfleisch 82% Übereinstimmungen sind.

Tab. 1 zeigt die Zahlenwerte bei der Kultur- und Schnittmethode des

Tabelle 1.

Untersuchungsnummer	Datum	Keimzahl von frisch verarbeitetem Hackfleisch		Keimzahl nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt bei 7°	
		je 1 g	je Gesichtsfeld	je 1 g	je Gesichtsfeld
1	1. 2. 32	26 000 000	34	52 000 000	99
2	11. 1. 32	433 000	0	255 000	0
3	12. 1. 32	243 000	1	2 666 000	5
4	13. 1. 32	666 000	1	1 430 000	18
5	18. 1. 32	852 000	29	2 540 000	66
6	19. 1. 32	2 080 000	3	5 200 000	30
7	20. 1. 32	5 129 000	15	12 900 000	55
8	25. 1. 32	18 800 000	89	49 200 000	145
9	26. 1. 32	6 170 000	12	18 300 000	24
10	27. 1. 32	1 400 000	2	3 910 000	4
11	2. 2. 32	3 333 000	0	7 330 000	11
12	3. 2. 32	103 000	1	50 000	1
13	11. 2. 32	546 000	1	1 600,000	17
14	15. 2. 32	54 000	2	6 783 000	7
15	16. 2. 32	1 322 000	3	1 860 000	2
16	18. 2. 32	4 800 000	1	7 253 000	27
17	22. 2. 32	705 000	4	2 000 000	25
18	23. 2. 32	602 000	5	1 065 000	28
19	26. 2. 32	73 000	5	1 040 000	8
20	29. 2. 32	283 000	2	1 450 000	14
21	1. 3. 32	530 000	0	233 000	2
22	8. 3. 32	563 000	2	957 000	4
23	9. 3. 32	528 000	0	657 000	1
24	14. 3. 32	37 000	0	1 870 000	3
25	15. 3. 32	533 000	2	2 233 000	45
26	18. 3. 32	348 000	1	782 000	3
27	23. 3. 32	1 955 000	0	13 547 000	2
28	31. 3. 32	168 300	2	333 000	2
29	4. 4. 32	5 350 000	1	13 110 000	16
30	6. 4. 32	698 000	2	7 800 000	19
31	11. 4. 32	2 080 000	20	8 320 000	52
32	13. 4. 32	953 000	2	4 430 000	11
33	18. 4. 32	342 000	0	1 657 000	3
34	21. 4. 32	280 000	0	666 000	1
35	25. 4. 32	2 800 000	3	5 455 000	8
36	29. 4. 32	1 173 000	5	5 870 000	8
37	2. 5. 32	2 933 000	25	10 777 000	40
38	6. 5. 32	1 810 000	0	2 560 000	2
39	9. 5. 32	5 730 000	5	17 440 000	12
40	12. 5. 32	4 907 000	1	5 253 000	12
41	20. 5. 32	3 045 000	5	14 993 000	34
42	23. 5. 32	6 253 000	8	11 413 000	34
43	25. 5. 32	3 138 000	8	16 433 000	39
44	30. 5. 32	950 000	4	427 000	1
45	1. 6. 32	29 640 000	10	41 280 000	51
46	3. 6. 32	780 000	11	3 850 000	17
47	6. 6. 32	1 210 000	1	4 080 000	19
48	13. 6. 32	907 000	2	6 813 000	8
49	13. 6. 32	1 707 000	2	5 793 000	21
50	15. 6. 32	4 480 000	3	9 707 000	4
51	17. 6. 32	7 147 000	7	10 760 000	12
52	22. 12. 32	1 387 000	2	3 323 000	4
53	22. 6. 32	853 000	5	7 833 000	8
54	27. 6. 32	51 200 000	64	49 993 000	105
55	30. 6. 32	4 893 000	6	23 013 000	37
56	4. 7. 32	3 950 000	3	4 370 000	20

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

Untersuchungsnummer	Datum	Keimzahl von frisch verarbeitetem Hackfleisch		Keimzahl nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt bei 7°	
		je 1 g	je Gesichtsfeld	je 1 g	je Gesichtsfeld
57	6. 7. 32	3 093 000	1	11 766 000	13
58	7. 7. 32	750 000	0	15 800 000	33
59	11. 7. 32	4 870 000	5	30 913 000	52
60	14. 7. 32	3 944 000	6	155 100 000	86
61	18. 7. 32	5 413 000	2	23 313 000	12
62	21. 7. 32	3 993 000	1	1 880 000	3
63	28. 7. 32	10 000 000	7	11 080 000	18
64	3. 8. 32	4 266 000	2	11 840 000	7
65	8. 8. 32	5 440 000	1	5 240 000	1
66	20. 9. 32	11 730 000	3	14 293 000	16
67	27. 9. 32	12 553 000	6	23 353 000	37
68	3. 10. 32	17 627 000	6	31 300 000	19
69	7. 10. 32	4 800 000	2	5 427 000	2
70	13. 10. 32	34 193 000	15	61 013 000	38
71	17. 10. 32	14 080 000	4	17 913 000	6
72	27. 10. 32	2 023 000	4	1 813 000	5
73	7. 11. 32	4 480 000	5	10 700 000	8
74	17. 11. 32	770 000	1	2 347 000	3
75	22. 11. 32	1 173 000	1	2 033 000	3
76	24. 11. 32	4 193 000	1	3 170 000	3
77	28. 11. 32	1 702 000	3	3 200 000	5
78	1. 12. 32	1 707 000	3	5 730 000	7
79	5. 12. 32	1 773 000	3	1 747 000	6
80	8. 12. 32	2 240 000	4	3 307 000	7
81	12. 12. 32	1 035 000	1	1 287 000	12
82	15. 12. 32	6 263 000	6	8 107 000	7
83	19. 12. 32	3 270 000	3	3 560 000	7
84	20. 12. 32	1 170 000	4	533 000	4
85	29. 12. 32	5 870 000	7	6 407 000	15
86	16. 1. 33	267 000	1	247 000	5
87	19. 1. 33	170 000	1	611 700	1
88	29. 1. 33	330 000	2	430 000	2
89	6. 2. 33	6 303 000	17	12 393 000	27
90	9. 2. 33	8 320 000	14	9 600 000	22
91	13. 2. 33	4 373 000	5	3 947 000	9
92	16. 2. 33	1 940 000	14	8 853 000	24
93	26. 2. 33	3 613 000	15	8 620 000	36
94	23. 2. 33	3 307 000	6	6 187 000	10
95	28. 2. 33	750 000	1	1 533 000	1
96	2. 3. 33	7 000	0	208 000	1
97	6. 3. 33	677 000	1	2 640 000	15
98	9. 3. 33	960 000	0	2 560 000	3
99	13. 3. 33	200 000	0	1 088 000	4
100	16. 3. 33	262 000	1	830 000	15

frischgekauften und des 24 Std. im Eisschrank bei durchschnittlich 7° aufbewahrten Hackfleisches.

Über die äußere Beschaffenheit des frisch gekauften Hackfleisches ist zu sagen, daß sie im allgemeinen einwandfrei war. Nr. 2, 12, 23, 26 und 34 machten der ausgesprochenen Rotfärbung wegen, die auch noch nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt fortbestand, den Eindruck, als ob der Ware ein Konservierungsmittel zugesetzt war. Eine chemische Untersuchung hat nicht stattgefunden. Nr. 8 war graurot, übelriechend, schwach sauer. Nr. 40 sah

rosa-grau aus, roch süßlich-fade, reagierte sauer und machte den Eindruck, als ob gekochtes Fleisch beigemengt war. Es war aus Gulaschfleisch hergestellt worden. Nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt sahen die meisten Proben graurot aus und waren bis auf Nr. 8 und 60, die übel rochen, in Geruch und Reaktion wenig verändert.

Die Auswertung der Keimzahlen bei Kultur- und Schnittmethode ergibt folgendes: Wenn man 1 Million Keime je 1 g gleich 1 Keim je Gesichtsfeld setzt und nur wirklich große Unterschiede als ungleich annimmt:

1. Bei Verarbeitung des frisch gekauften Rinderhacks:
   a) Etwa gleich: 82%.
   b) Erheblich höhere Keimzahl bei der Schnitt- gegenüber der Kulturmethode: 11%.
   c) Erheblich höhere Keimzahl bei der Kultur- gegenüber der Schnittmethode: 7%.
2. Nach 24 Std. Aufenthalt im Eisschrank bei durchschnittlich 7°:
   a) Etwa gleich: 65%.
   b) Erheblich höhere Keimzahl bei der Schnitt- gegenüber der Kulturmethode: 32%.
   c) Erheblich höhere Keimzahl bei der Kultur- gegenüber der Schnittmethode: 3%.

Hierbei ist zu bemerken, daß bis zu 5 Millionen Keime je 1 g bzw. 5 Keime je Gesichtsfeld Gleichsein angenommen wurde, sofern bei beiden Methoden die Zahlenwerte unter dieser Grenze lagen, über dieser Grenze Ungleichheit nur dann, wenn die Keimzahl der einen Methode die der anderen um ein Mehrfaches übertraf, immer unter der Annahme: 1 Million je 1 g = 1 Keim je Gesichtsfeld. Daß diese Annahme berechtigt ist, beweist das Ergebnis, denn die Übereinstimmung von 82% bei dem frischverarbeiteten Hackfleisch ist eine so große, wie sie bei der Annahme anderer Verhältniszahlen kaum erreicht werden dürfte. Es könnte beanstandet werden, daß die Ergebnisse beider Methoden als übereinstimmend angenommen worden sind, wenn die Grenze von 5 Millionen je Gramm bzw. 5 Keimen je Gesichtsfeld nicht überschritten wurde, wenn z. B. einer Zahl von 4 Millionen im Gramm 0 im Gesichtsfeld, oder 5 im Gesichtsfeld 40 000 im Gramm gegenüberstehen. Die Annahme der Gleichheit trotz solcher verhältnismäßig großer Unterschiede ist in diesem Falle berechtigt, da es sich hier um Festlegung eines praktisch brauchbaren Grenzwertes handelt. Da dieser Grenzwert sicher nicht unter 5 Millionen je Gramm bzw. 5 Keimen je Gesichtsfeld liegt, ist mithin Hackfleisch, dessen Keimzahl unter diesen Werten liegt, auf jeden Fall bezüglich der bakteriellen Durchsetzung einwandfrei. Wie müßten sich die Keimzahlen beider Methoden zueinander verhalten, wenn alle Keime mit der Kulturmethode nachgewiesen werden könnten? Das ergibt eine einfache Berechnung. Die Raumgröße eines Gesichtsfeldes im Mikroskop bei 800facher Vergrößerung wird durch die Formel $\pi \cdot r^2 \cdot h$ bestimmt, $\pi = 3$, $r = {}^1/_{12}$ mm, h (bei 10 μ) = ${}^1/_{100}$ mm. Raumgröße = $\frac{3}{14\,400}$ cbmm = dem 4 800 000. Teil eines Kubikzentimeters. Hiernach entspricht 1 Keim je Gesichtsfeld mindestens 4 000 000 Keimen je 1 g. Tatsächlich vermag — wie wir gesehen haben — die Kulturmethode aber nur

etwa den vierten Teil sichtbar zu machen. Die Fehlerquellen, welche das bedingen, wurden wiederholt aufgeführt.

Wir kehren zu der ersten Gegenüberstellung der Ergebnisse der Schnitt- und Kulturmethode zurück und erkennen, wie stark die Übereinstimmung absinkt, sobald das Fleisch 24 Std. im Eisschrank gestanden hat: Vorher 82%, dann nur noch 65%. Beim frischen Fleisch ist bei Betrachtung der ungleichen Ergebnisse die Schnitt- der Kulturmethode im Verhältnis 11 : 7 überlegen, beim Eisschrankfleisch wächst sich diese Verhältniszahl zu 32 : 3 aus. Auch hierfür wurden die Gründe bereits angeführt: Die Kältekeime, welche im Eisschrank das Hackfleisch durchsetzen, wachsen bei 37 oder 22° und auf den üblichen Nährböden nur zu einem geringen Teil, entgehen bei der Kulturmethode somit dem sicheren Nachweis, die Schnittmethode aber erfaßt sie. Tab. 2 veranschaulicht diesen Tatbestand in gleicher Weise. Eine Verringerung der Keimzahl nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt ergibt sich bei der Kulturmethode 5mal, bei der Schnittmethode nur 2mal. 1—10-fache Vermehrung findet sich bei der Kulturmethode 88mal, bei der Schnittmethode 75mal, 11—20fache Vermehrung und mehr aber bei der Kulturmethode 7mal, bei der Schnittmethode dagegen 23mal.

Tabelle 2.

-fache Vermehrung nach 24 Std. Eisschrank-aufenthalt	In wieviel Fällen bei der Kulturmethode?	In wieviel Fällen bei der Schnittmethode?
½ und weniger	5	2
1	23	14
2	27	27
3	14	12
4	10	3
5	9	5
6	1	7
7	2	3
8	0	0
9	1	1
10	1	3
Sa.:	88	75
11	0	0
12	0	2
13	2	1
14	0	1
15	1	2
16	0	1
17	0	1
18	0	1
19	0	1
20 u. mehr	4	18
Sa.:	7	23

In Tab. 3 sind die Keimzahlen der Kultur- und Schnittmethoden in 7 Gruppen zusammengefaßt. Bei dem frischverarbeiteten Fleisch hat danach die Kulturmethode nur 9 Fälle über 10 Millionen Keime je 1 g festgestellt, die Schnittmethode aber 15 Fälle mit über 10 Keimen je Gesichtsfeld; nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt ist das Verhältnis 29 : 50.

Tabelle 3.

Keimzahl je 1 g bzw. je Gesichtsfeld	Frisch verarbeitet		Nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt	
	Kulturmethode	Schnittmethode	Kulturmethode	Schnittmethode
0—1 Mill. bzw. 0—1.	37	33	15	9
1,1—5 Mill. bzw. 2—5	41	40	34	25
5,1—10 Mill. bzw. 6—10	13	12	22	16
10,1—30 Mill. bzw. 11—30 . . .	7	12	21	31
30,1—60 Mill. bzw. 31—60 . . .	2	1	6	14
60,1—100 Mill. bzw. 61—100 . .	0	2	1	3
über 100 Mill. bzw. über 100 . .	0	0	1	2

Die große Überlegenheit der Schnittmethode über die Kulturmethode kommt in Tab. 2 und 3 deutlich zum Ausdruck. Es besteht hier ein scheinbarer Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen von Kallert. Er fand mit der Kulturmethode ungefähr die gleichen Ergebnisse wie mit der Durchmusterung von Klatschpräparaten. Von ihm wurden rund $^1/_5$ mehr Fälle hohen Keimgehalts durch die Kulturmethode als durch die Untersuchung der Klatschpräparate aufgedeckt. Der Grund für den Unterschied in den Ergebnissen bei Kallert und mir liegt in der Verschiedenartigkeit der Methoden. Nach meinen Erfahrungen geben, wie anfangs schon erwähnt, die Klatschpräparate gegenüber den Schnittpräparaten kein naturgetreues Bild. Diese Feststellung wird von den neuesten Untersuchungen von Schönberg bestätigt. Wahrscheinlich wird bei den Klatschpräparaten vornehmlich Gewebssaft und weiches Muskelgewebe erfaßt, während die Keime vorwiegend im festeren Zwischenmuskelgewebe sitzen, wo sie von der Schnittmethode ohne weiteres nachgewiesen werden.

In Tab. 4 sind die Ergebnisse zusammengestellt, bei denen bei einer oder bei beiden Methoden der Zahlenwert von frischem und Eisschrankhack unter 10 Millionen je 1 g bzw. 10 Keimen je Gesichtsfeld liegt. Das ist bei 68 Untersuchungen der Fall. Von diesen liegen 46mal bei beiden Methoden die Keimzahlen unter 10 Millionen bzw. 10; von den 22 ungleichen Fällen liegt 19mal das Ergebnis der Schnittmethode über 10, das der Kulturmethode unter 10 Millionen, nur 3mal verhält es sich umgekehrt.

Tabelle 4.

Keimzahl unter 10 Millionen je 1 g bzw. unter 10 je Gesichtsfeld bei frischem und bei Eisschrankhack, getrennt nach den Monaten Mai—September und Oktober—April.

	Mai bis September	Oktober bis April	„Summe“
Gesamtzahl der bei Schnitt- oder Kulturmethode unter 10 bzw. 10 Millionen liegenden Fälle .	12	56	68
Bei beiden Methoden übereinstimmend unter 10 bzw. 10 Millionen liegende Fälle	7	39	46
Zahl der Fälle, bei denen nur die Kulturmethode unter 10 Millionen Keime je 1 g blieb, bei der Schnittmethode dagegen die Keimzahl je Gesichtsfeld über 10 lag	4	15	19
Zahl der Fälle, bei denen nur bei der Schnittmethode die Keimzahl je Gesichtsfeld unter 10 lag, dagegen bei der Kulturmethode über 10 Millionen Keime je 1 g gezählt wurden .	1	2	3

Bezeichnen wir Hackfleisch mit über 10 Millionen Keime je 1 g bzw. über 10 Keime je Gesichtsfeld mit beanstandbar, die darunterliegenden Werte mit einwandfrei, dann zeigt uns Tab. 5, wie häufig bei der Kultur- und Schnittmethode die 100 untersuchten Hackfleischproben beanstandbar bzw. einwandfrei waren. Es stehen sich bei der Verarbeitung frisch gekauften Rinderhacks im ganzen gegenüber: Einwandfrei bei der Kulturmethode 91, bei der Schnittmethode 86, beanstandbar 9 bzw. 14 Fälle; bei der Verarbeitung von 24 Std. altem Eisschrankhacks: Einwandfrei bei der Kulturmethode 70, bei der Schnittmethode 50, beanstandbar 30 bzw. 50. Nehmen wir 10 Millionen Keime je 1 g bzw. 10 Keime je Gesichtsfeld als Grenzwert an, so erweist sich auch hierbei, wie nach den bisherigen Ausführungen nicht anders zu erwarten, die Schnittmethode der Kulturmethode überlegen, denn sie erfaßt bei frischem Hack 5, beim Eisschrankhack 20 zu beanstandende Fälle mehr.

Tabelle 5.

		Mai—September		Oktober—April	
		einwandfrei[1])	zu beanstanden[2])	einwandfrei[1])	zu beanstanden[2])
Kulturmethode . . .	frisches Hack	26	4	65	5
	Eisschrankhack	13	18	57	12
Schnittmethode . . .	frisches Hack	27	3	59	11
	Eisschrankhack	9	22	41	28

[1]) Einwandfrei = unter 10 Millionen Keime je 1 g bzw. unter 10 Keime je Gesichtsfeld (bei 800facher Vergrößerung).
[2]) Zu beanstanden = über 10 Millionen Keime je 1 g bzw. über 10 Keime je Gesichtsfeld.

Zur Beantwortung der Frage, wie der Grenzwert festzulegen ist, ist es ferner erforderlich, die Zuverlässigkeit der Kultur- und Schnittmethode in der warmen und kalten Jahreszeit zu prüfen. Auch hierüber geben die Tab. 4 und 5 Auskunft. Zunächst ist festzustellen, daß in der Tab. 4 in der warmen Jahreszeit von der Gesamtzahl der bei einer der Methoden sowohl beim frischen wie beim Eisschrankhack unter 10 bzw. unter 10 Millionen Keimen liegenden Fällen etwa die Hälfte (7 : 12) bei beiden Methoden übereinstimmt, in der kalten Jahreszeit erheblich mehr als die Hälfte (39 : 56). Das ist nicht verwunderlich, da in der warmen Jahreszeit gegenüber der kalten die Zahl der Fälle eine größere sein muß, bei denen nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt bei einer der Methoden die Keimzahl über 10 bzw. 10 Millionen steigt und somit die Zahl der Übereinstimmungen sinkt. Ein Vergleich der Anzahl der Fälle, bei denen die Kulturmethode bei frischem und Eisschrankhack unter 10 Millionen, die Schnittmethode aber in dem einen oder anderen Falle über 10 liegt, mit denjenigen, wo es sich umgekehrt verhält, bestätigt die bisherigen Feststellungen: In der warmen Jahreszeit verhalten sich diese Zahlen wie 4 : 1, in der kalten dagegen wie 15 : 2. In der kalten Jahreszeit sind die Unterschiede im Ergebnis beider Methoden also hauptsächlich dadurch bedingt, daß die Schnittmethode 7 mal so oft besser arbeitet als die Kulturmethode, im Sommer dagegen nur 4 mal so oft. Auch hier kommt das zuverlässigere Arbeiten der Schnittmethode beim Nachweis der Kältebakterien klar zum Ausdruck; sie ist der Kulturmethode besonders im Winter ganz erheblich überlegen.

Dasselbe lehrt Tab. 5, wo die Ergebnisse für frisches und Eisschrank-

hack getrennt aufgeführt sind. Hier ist in der warmen Jahreszeit das Verhältnis der einwandfreien zu den beanstandeten Fällen bei frischem Hack für Kultur- und Schnittmethode ungefähr dasselbe (26 : 4 und 27 : 3); in der kalten Jahreszeit aber kommt von 70 Untersuchungen die Kulturmethode nur zu 5 Beanstandungen, die Schnittmethode dagegen zu 11. Beim Eisschrankhack zeigt sich in dieser Tabelle die Überlegenheit der Schnittmethode in der kalten und warmen Jahreszeit. In der warmen Jahreszeit sind von 30 Untersuchungen bei der Kulturmethode 18, bei der Schnittmethode 22 zu beanstanden, in der kalten Jahreszeit von 70 Untersuchungen bei der Kulturmethode 11, bei der Schnittmethode 28.

Beide Methoden weisen beim Eisschrankhack im Sommer mehr zu beanstandende als einwandfreie Fälle auf, im Winter ist es umgekehrt. Hier kommt die stärkere bakterielle Verunreinigung in der warmen Jahreszeit zum Ausdruck, besonders eben dann, wenn die Bakterien 24 Std. Zeit gehabt haben, das Hackfleisch zu durchsetzen. Wer noch glaubt, durch Aufbewahren im Eisschrank Hackfleisch vor bakterieller Zersetzung bewahren zu können, wird durch diese Zahlen sehr anschaulich eines besseren belehrt. Es stimmen diese Ergebnisse mit den Untersuchungen anderer Autoren überein. Eugen Mayer z. B. hat bereits 1901 eingehend über die kulturell nachweisbare Keimvermehrung im Hackfleisch bei längerem Aufenthalt im Eisschrank (12—15°) und Keller (18—20°) berichtet. Das Zahlenverhältnis der Kulturmethode bei frischem Hack im Sommer von 26 : 4 ist nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt in 12 : 18 verkehrt, bei der Schnittmethode wird das Zahlenverhältnis von 27 : 3 in 8 : 22 umgewandelt. In der kalten Jahreszeit ändert sich das Verhältnis für die Kulturmethode von 65 : 5 in 58 : 12, für die Schnittmethode von 59 : 11 in 42 : 28. In der warmen Jahreszeit zeigt die Kulturmethode die Keimzahl gut an, wenn auch nicht so gut wie die Schnittmethode. Es handelt sich bei der Verschmutzung des Fleisches vom Mai bis September hauptsächlich um Wärmebakterien, die von der Kulturmethode zum großen Teil erfaßt werden. In der kalten Jahreszeit dagegen versagt die Kulturmethode beim Nachweis der tatsächlichen Keimzahl im Eisschrankhack gegenüber der Schnittmethode erheblich.

Fassen wir diese mit Bezug auf die Jahreszeiten vorgenommenen Feststellungen zusammen, so besteht kein Zweifel, daß die Kulturmethode vornehmlich die Wärmebakterien (zwischen 20 und 40°), die Schnittmethode dagegen auch die im Winter und Eisschrank das Hackfleisch anscheinend sehr stark durchsetzenden Kältebakterien (zwischen 0 und 20°) nachweist, somit der Kulturmethode an Zuverlässigkeit überlegen ist.

Tabelle 6. Gute Schlächter.

Laufende Nr.	Keimzahl			
	Kulturmethode		Schnittmethode	
	frisches Hack	Eisschrankhack	frisches Hack	Eisschrankhack
1	433 000	255 000	0	0
2	73 000	1 040 000	5	8
3	530 000	233 000	0	2
4	528 000	657 000	0	1
5	2 800 000	5 400 000	3	8
6	4 800 000	30 900 000	5	52
7	4 200 000	11 800 000	2	7
8	3 000 000	11 700 000	1	13

Weiterhin wurden die Keimzahlen beider Methoden an der Hand einer Zusammenstellung guter Schlachtereibetriebe verglichen (Tab. 6). Als gut wurden alle Schlächter eines langen Hauptstraßenzuges angenommen, von welchen mehrere als einwandfreie Betriebe bekannt und als solche von mir verschiedentlich durch Untersuchungen festgestellt sind. In dieser Zusammenstellung müssen — wenn die Hackfleischproben wirklich aus einwandfreien Betrieben stammen — bei beiden Methoden die Keimzahlen niedrig liegen, denn aus gutem Fleisch mit sauberem Wolf frisch hergestelltes Hackfleisch ist keimarm.

Diese Annahme wird durch Tab. 6 bestätigt. Beim frischen Hack stimmen die Keimzahlen beider Methoden so gut überein, wie es bei zwei technisch so verschiedenen Methoden überhaupt möglich ist (Annahme: 1 Million Keime je 1 g bei der Kulturmethode gleich 1 Keim je Gesichtsfeld bei der Schnittmethode). Auch beim Eisschrankhack sehen wir in dieser Tabelle eine gewisse Gleichmäßigkeit im Höhergehen der Keimzahl bei 5—6 Fällen, wenngleich der Ausschlag bei der Schnittmethode im allgemeinen ein größerer ist. Nur 2 mal gehen die Zahlenwerte bei beiden Methoden über 10 bzw. 10 Millionen hinaus. 5 mal ist das Hackfleisch auch noch nach 24 Std. Eisschrankaufenthalt verhältnismäßig keimarm. Nach diesen Feststellungen scheint es gerechtfertigt, die so geprüften Schlachtereibetriebe des Hauptstraßenzuges bezüglich des Keimgehaltes des Hackfleisches für einwandfrei zu halten. Erwähnt sei noch, daß fünf dieser Schlächter (Nr. 1, 2, 3, 6 und 7) das Hackfleisch vorrätig hatten (anscheinend des großen Umsatzes wegen), nur dreimal (Nr. 4, 5 und 8) wurde frisches Fleisch durchgedreht, davon einmal Gulaschfleisch (Nr. 5).

Schließlich sind in Tab. 7 die Keimzahlergebnisse nach der Art der Hackfleischfertigstellung geordnet.

Tabelle 7.

Art der Hackfleischfertigstellung	In wieviel % d. untersuchten Fälle?	Keimzahl			
		bis 1 Mill. bzw. 0—1	1,1—5 Mill. bzw. 2—5	5,1—10 Mill. bzw. 6—10	über 10 Mill. bzw. über 10 Keime
Aus Gulaschfleisch hergestellt	22	9	9	1	3
		9	8	2	3
War gehackt vorrätig	25	10	9	4	2
		9	7	5	4
Wurde vom Stück frisch gehackt	53	18	23	8	4
		15	24	6	8

Beim Gulaschfleisch fällt die gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden auf. Beim gehackt vorrätigen und frisch hergestellten Hack kommt die Schnittmethode doppelt so oft über 10 Keime je Gesichtsfeld als die Kulturmethode über 10 Millionen je 1 g. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß in den untersuchten Fällen bei allen 3 Hackfleischarten die durchschnittliche bakterielle Durchsetzung ungefähr dieselbe war. Bei dem frisch gehackten Fleisch ist im Gegensatz zu den beiden anderen Hackfleischarten allerdings die Zahl der Fälle zwischen 1,1—5 Millionen bzw. 2—5 Keime größer als die der Fälle zwischen 0—1 Million bzw. 0—1 Keim, und zwar übereinstimmend bei der Kultur- und Schnittmethode.

Wir kommen zur Beantwortung der zweiten Frage: Wie muß ein Grenzwert für Hackfleisch festgelegt werden? Nach den vorstehenden Unter-

suchungsergebnissen und den angestellten Vergleichen übertrifft die Schnittmethode die Kulturmethode erheblich an Zuverlässigkeit, besonders im Winter und bei Eisschrankhack. Es wurde dargelegt, daß die Schnittmethode ein getreues Spiegelbild der bakteriellen Durchsetzung des Hackfleisches geben muß, daß die Fehlerquellen bei dieser Methode gegenüber der Kulturmethode gleich Null sind. Als Beweis für die Brauchbarkeit der Paraffinschnittmethode sind die Tab. 1—7 zusammengestellt. Sie veranschaulichen den Einfluß von Sommer und Winter, Eisschrankklima, Schlächtereihygiene u. a. auf die bakterielle Durchsetzung des Hackfleisches in überzeugenderer Weise, als es der Kulturmethode möglich ist. Die Schnittmethode stellt somit die Methode der Wahl dar, welche ein zuverlässiges Festlegen eines Grenzwertes für die Keimzahl im Hackfleisch tatsächlich ermöglicht. Wir konnten ferner feststellen, daß bei frischem Hack die gefundenen Keimzahlen beider Methoden weitgehend übereinstimmen (82%). Bei dieser Übereinstimmung entspricht 1 Keim je Gesichtsfeld ungefähr 1 Million Keime je 1 g.

Es bleibt endlich die dritte Frage zu beantworten: Wo muß der Grenzwert festgelegt werden? Die Durchschnittswerte der Keimzahlen bei frischem und Eisschrankhack für die Kultur- und Schnittmethode sind für die hier untersuchten 100 Hackfleischproben folgende:

Frisches Hack:

Schnittmethode: 6 Keime je Gesichtsfeld (800fache Vergrößerung).
Kulturmethode: 4 248 120 Keime je 1 g.

Eisschrankhack (24 Std.):

Schnittmethode: 18 Keime je Gesichtsfeld.
Kulturmethode: 10 107 620 Keime je 1 g.

Stroscher fand 1901 beim besten frischen Hackfleisch aus dem Fleischerladen 6 393 000 Keime je 1 g. Zieht man die besseren hygienischen Verhältnisse in den heutigen Schlachthöfen und Schlachtereibetrieben gegenüber denen von 1901 in Betracht, so stimmt der Durchschnittswert von Stroscher mit dem obigen gut überein. Nach den Untersuchungen von Kallert (1930) lagen bei 71 von 80 Hackfleischproben die Keimzahlen außen und innen unter 5 Millionen je 1 g. Er stellte beim Frischhack nur eine Durchschnittskeimzahl von 1 846 781 je 1 g fest. Berücksichtigen wir, daß von den 100 hier untersuchten Frischhackproben nur bei 9 über 10 Millionen Keime je 1 g kulturell nachweisbar waren, und daß Kallert unter 80 Hackfleischproben nur 5 mit über 10 Millionen Keimen je 1 g (außen) fand, so läuft man sicher nicht Gefahr, zu strenge Bedingungen zu stellen, wenn man für die Kulturmethode zunächst 10 Millionen je 1 g als Grenzwert festsetzt, was einem solchen von 10 Keimen je Gesichtsfeld bei der Schnittmethode entsprechen würde. Da, wie gezeigt wurde, diese die Bakterien zahlenmäßig besser erfaßt, wären bei einem Grenzwert von 10 Keimen je Gesichtsfeld von den 100 untersuchten frischen Hackfleischproben durch die Schnittmethode 15 zu beanstanden, also 6 mehr als durch die Kulturmethode. Nach 24 Stunden Eisschrankaufenthalt würden nach der Kulturmethode 29%, nach der Schnittmethode sogar 50% als zu stark bakteriell durchsetzt (über 10 Millionen bzw. 10 Keime) zu beanstanden sein. Zieht man in Betracht, daß in zahlreichen Schlachtereibetrieben durch

geeignete hygienische Maßnahmen beim Transport, in der Behandlung, Aufbewahrung und Verarbeitung des Fleisches die Keimzahl noch ganz erheblich gedrückt werden kann, so kommt man zu dem Schluß, daß ein Grenzwert von 10 Millionen je 1 g bzw. 10 Keime je Gesichtsfeld (bei 800-facher Vergrößerung) als zunächst einzuführender Maßstab für die Beurteilung des Hackfleisches außerordentlich weitherzig festgelegt ist und nach den vorstehenden Feststellungen von einem gewissenhaften, sauber arbeitenden Schlachter unter allen Umständen in jeder Jahreszeit unterschritten werden kann.

Sind die für Rinderhackfleisch errechneten Grenzwerte nun auch für Schweine- und Pferdehack zu verwerten? Diese Frage ist zu bejahen. Frisches, sauber behandeltes Schweine- und Pferdehack sind genau so keimarm wie das vom Rind. Zeller und Beller stellten in dem von ihnen in ihrer lehrreichen Arbeit angeführten Fall von zerstückeltem Schweinefleisch an der Oberfläche und im Innern einen Keimgehalt zwischen 2 233 000 und 9 733 000 fest; also selbst in diesem sehr ungünstig liegenden Fall (Stückfleisch) wird der Grenzwert von 10 Millionen, allerdings bei Anwendung der Kulturmethode, noch nicht einmal überschritten. Beim Pferdehack, welches sehr häufig als Ursache von Fleischvergiftungen angeführt wird, erscheint die Einführung eines Grenzwertes besonders notwendig. Es wurde eingangs bereits darauf hingewiesen, daß die Einführung eines Grenzwertes den Verkauf zu alten Hackfleisches bzw. von Hack aus zu altem Stück- oder Gulaschfleisch und somit auch von Ware hintanhalten würde, in der anfangs nur vereinzelte Bakterien aus der Paratyphus - Gärtner - Gruppe sich in gesundheitsschädlicher Weise im Verlaufe der zu langen Aufbewahrung entwickelt haben. Hierin erblicke ich eine besonders wichtige Auswirkung der Einführung eines Grenzwertes für alle Arten von Hackfleisch.

Wie würde die Einführung des Grenzwertes für Hackfleisch sich in der Praxis auswirken?

Zugleich mit der Einführung wären die Schlächter zu warnen, altes Oberflächen-, Stück- oder Gulaschfleisch zu Hackfleisch zu verarbeiten. Es wäre ihnen zu empfehlen, nur vom Stück geschnittenes, möglichst frisches oder solches Stück- oder Gulaschfleisch zu verarbeiten, welches im Laufe desselben Tages von bester Ware abgefallen und sachgemäß aufbewahrt worden ist. Als Grenzwert würden für die Kulturmethode 10 Millionen Keime je 1 g, für die Schnittmethode 10 Keime je Gesichtsfeld (bei 800 facher Vergrößerung) festzulegen sein. Verwarnung bei der 1. und 2. Überschreitung dieses Grenzwertes und Bestrafung mit ausreichender Geldstrafe bzw. in schweren Fällen mit Schließung des Geschäftes bei der 3. Überschreitung innerhalb eines Jahres. Bei Keimzahlen über 50 und 100 Millionen bzw. 50 und 100 je Gesichtsfeld könnten schon beim 1. bzw. 2. Male Geldstrafen in unterschiedlicher Höhe verhängt werden. Die Methoden für die Untersuchungsämter wären genau festzulegen. Als Kulturmethode erscheint die von Zeller und Beller beschriebene und auch von mir angewendete Methode die zweckmäßigste. Aerobe Bebrütung der Agarplatten bei 37°. Als Schnittmethode hat sich die auch von mir geübte übliche Gefrier- oder Paraffinmethode bewährt, auf die ich in meiner Arbeit „Die Bedeutung der Schnittpräparate . . .“ näher eingegangen bin. Gegen die Anwendung gleichwertiger oder besserer Methoden ist natürlich nichts einzuwenden. Ver-

arbeitung von mindestens 3 Stücken aus verschiedenen Stellen des gut durchgekneteten zu untersuchenden Hackfleisches nach der Kultur- und Schnittmethode. Feststellung der Durchschnittskeimzahl bei der Kulturmethode aus den 3 gegossenen Agarplatten, bei der Schnittmethode durch Anfertigung von mindestens 5 Schnittpräparaten (die nicht hintereinander gewonnen sein dürfen) von jedem der 3 Probestückchen. Durchmusterung von mindestens 4 Gesichtsfeldern von jedem Schnitt, insgesamt also von 60 Gesichtsfeldern von jeder zu untersuchenden Hackfleischprobe; Feststellung der Durchschnittskeimzahl. Ausschlaggebend für die Bewertung einer Hackfleischprobe wäre die Keimzahl der Schnittmethode, da sie, wie nachgewiesen wurde, erheblich mehr Keime erfaßt als die Kulturmethode. Diese würde hauptsächlich als Kontrollmethode dienen und gegebenenfalls zur Untersuchung von weiteren Stückchen der Fleischprobe mit der Schnittmethode anregen, wenn ihre Keimzahl über, die der Schnittmethode bei der ersten Untersuchung dagegen unter dem Grenzwert liegt.

Wesentliche Schwierigkeiten stehen der Durchführung nicht entgegen. Besonders die Gefrierschnittmethode arbeitet sehr schnell; das Auszählen der Keimzahl von 60 Gesichtsfeldern erfordert durchschnittlich höchstens ½ Std. Bei der allgemein anerkannten Notwendigkeit einer scharfen Hackfleischkontrolle darf die Einführung des Grenzwertes auch nicht an kleinlichen Bedenken etwa an Mehrkosten scheitern. Es erscheint nicht zweifelhaft, daß diese Kosten durch den erreichten größeren Schutz der Volksgesundheit mehr als ausgeglichen werden. Vielleicht wird der Forderung auf Einführung eines Grenzwertes für Hackfleisch auch wieder entgegengehalten, daß man Hackfleisch nicht lediglich deshalb beanstanden könne, weil die Keimzahl eine gewisse Höhe überschreite; das Fleisch könne doch trotz der zahlreichen Saprophyten absolut genußtauglich sein. Dieser Einwand ist neuerdings von Schönberg gegen meine Forderung in einer früheren Arbeit vorgebracht worden, zu stark bakteriell durchsetzte Würste zu beanstanden, wofür ich bestimmte Vorschläge gemacht habe. Schönberg schreibt: „Hierzu ist zu erwähnen, daß die Beurteilung von Wurst als verdorben und gesundheitsschädlich lediglich deshalb, weil sie mit Bakterien stark durchsetzt war, unhaltbar erscheint. Vor allen Dingen hätte Brekenfeld für solche Schlußfolgerung den Begriff der starken bakteriellen Durchsetzung näher definieren müssen." Dem Humanhygieniker kann die Beurteilung einer stark bakteriell durchsetzten Wurst als verdorben und gesundheitsschädlich nicht als unhaltbar erscheinen. Der Arzt hat im täglichen Leben zu häufig Gelegenheit, Magendarmstörungen nach dem Genuß angeblich einwandfreier Wurst zu beobachten, als daß er die Berechtigung meiner Forderung nicht anerkennt. Eine Definition der starken bakteriellen Durchsetzung habe ich für überflüssig gehalten. Die Annahme einer Durchsetzung setzt m. E. schon voraus, daß in jedem Schnitt hunderte bis unzählbare Keime liegen. Mit Bakterien durchsetzt heißt: durch und durch mit Bakterien besetzt. Durch Vorsetzen von „stark" oder „sehr stark" kann man noch gewisse graduelle Unterschiede zum Ausdruck bringen. Hiernach erübrigte sich eine Definition des Begriffes „durchsetzt". Ich werde an anderer Stelle auf die Arbeit von Schönberg näher eingehen. Hier möchte ich abschließend in Verbindung mit meinen Hackfleischuntersuchungen folgendes noch einmal hervorheben: Ich habe nie die Herstellung bakterienfreier Fleischwaren verlangt. Sie ist weder möglich noch nötig. Ich fordere lediglich die Herstellung einer durchaus möglichen keimarmen

Ware und zwar einer so keimarmen, wie sie von einem hygienisch einwandfreien Betrieb aus einwandfreiem Fleisch möglich ist. Ob eine Fleischware dieser Forderung genügt, vermag bei sinnlich einwandfreier Ware sicher nur die Schnittmethode festzustellen. Ich habe nie behauptet, wie es Schönberg anzunehmen scheint, daß die Schnittmethode in der Fleisch- und Wurstwarenbegutachtung alle anderen Methoden überflüssig macht. Ich habe sie vielmehr bei der Begutachtung als unbedingt notwendige, ergänzende Methode, bei der Betriebsüberwachung als schnelle, zuverlässige Kontrollmethode empfohlen, die ein Spiegelbild von den hygienischen Verhältnissen des betreffenden Betriebes wiedergibt. Die Schnittmethode der Fleischwaren gibt allein die Möglichkeit, sicher zu erkennen, ob die Ware aus keimreichen Oberflächen-, Stück- oder Abfallfleisch, aus unsauber gepökelten oder aufbewahrten Stücken oder Organen hergestellt ist oder aus einwandfreien. Ich verweise hier noch einmal auf das eingangs erwähnte Sachverständigengutachten eines Fabrikanten. Der Käufer kann einwandfreies, vollwertiges Rohmaterial bei der Herstellung der Ware verlangen und die Verarbeitung alter minderwertiger Ware ablehnen. Bakteriell stark durchsetztes Fleisch aber ist nicht nur minderwertig, sondern kann, wie verschiedentlich ausgeführt wurde, auch selbst dann gesundheitsschädlich sein, wenn es eine sinnlich einwandfreie Ware und nur von sog. Saprophyten durchsetzt ist. Es kann hier auch eine Parallele mit der Trinkwasserbegutachtung gezogen werden. Auf der vorjährigen Hygienikertagung in Gießen herrschte Einigkeit darüber, daß gutes Trinkwasser nicht nur in chemischer und bakteriologischer Hinsicht genügen müsse, sondern daß bezüglich seiner Herkunft auch das ästhetische Moment im Gutachten zu berücksichtigen sei. Dasselbe ist von Fleischwaren zu verlangen. Schmieriges, stark betrocknetes, nicht mehr gut riechendes Fleisch, unsaubere Herstellung, Pökelung u. a. wirken ekelerregend. Die fertige Ware kann sinnlich noch so einwandfrei sein, wurde sie — wenn auch nur zum Teil — aus ekelerregendem Material oder in ekelerregender Weise hergestellt, so ist sie schon deswegen als verdorben zu bezeichnen. Es ist also daran festzuhalten, daß stark bakteriell durchsetzte Fleischwaren verdorben und gesundheitsschädlich im Sinne des Lebensmittelgesetzes sind, auch wenn die grobsinnliche Untersuchung nichts nach dieser Richtung hin ergibt. Das gilt für Wurst und Hackfleisch in gleicher Weise.

Zusammenfassung.

1. Die Festlegung eines Grenzwertes für die Keimzahl im Hackfleisch ist wegen der großen Zahl jährlicher Erkrankungen nach Hackfleischgenuß notwendig. Nur wenn der Schlachter gezwungen wird, Hackfleisch mit einer Keimzahl nicht über eine bestimmte Grenze hinaus zu verkaufen, wird er daran gehindert, bakteriell stark durchsetztes, minderwertiges Fleisch zu Hackfleisch zu verarbeiten oder zu altes Hackfleisch feilzubieten, welche als verdorben und gesundheitsschädlich bezeichnet werden müssen.

2. Kultur- und Schnittmethode kommen für die Festlegung eines Grenzwertes in Frage. Die Schnittmethode übertrifft die Kulturmethode besonders in der kalten Jahreszeit und bei Hackfleisch, welches im Eisschrank aufbewahrt wurde, an Zuverlässigkeit. Sie arbeitet fehlerfrei und gibt ein absolut naturgetreues Bild von der bakteriellen Durchsetzung des Fleisches.

3. Es wird vorgeschlagen, den Grenzwert für die Schnittmethode bei 800facher Vergrößerung bei 10 Keimen je Gesichtsfeld festzulegen, das ent-

spricht einem Grenzwert bei der Kulturmethode von rund 10 Millionen Keime je 1 g.

Literatur.

Mayer, Eugen, Über den Keimgehalt des käuflichen Hackfleisches. (Hyg. Rundschau. 1901. Nr. 18.) — Mayer, G., Massenerkrankungen durch Nahrungs- und Genußmittel. (Dtsch. Vierteljahresschr. f. öffentl. Gesundh. Bd. 45. 1913.) — Kuppelmayer, Zur Kasuistik der Fleischvergiftungen 1913—1922. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. 1924. Heft 16.) — Meyer, R., Zur Statistik der Fleischvergiftungen 1923—1925. (Reichsges.-Bl. 1926. Nr. 50.) — Klimmeck, Kasuistik der Fleisch- und Wurstvergiftungen in Preußen 1924 und 1925. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1927. Nr. 2.) — Meyer, R., Zur Statistik der Fleischvergiftungen 1926—1928. (Reichsges.-Bl. 1929 II. S. 725—729.) — Meyer, R., Zur Statistik der Fleischvergiftungen 1929 und 1930. (Reichsges.-Bl. 1932. Nr. 20.) — Stang und Wirth, Tierheilkunde und Tierzucht. Bd. 3. 1927. S. 469. — v. Ostertag, Verwendung von Wurstabschnitten u. dgl. zur Herstellung von billiger Wurst. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. 1932. Heft 18.) — Geheimnisse einer Wurstfabrik. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. Jahrg. 42. 1932. Heft 14 und Jahrg. 43. Heft 4.) — Brekenfeld, Die Bedeutung der Schnittpräparate. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 75. 1928.) — Brekenfeld, Die Bakterioskopie der Fleischwaren als Spiegelbild der hygienischen Verhältnisse des herstellenden Betriebes. (Arch. f. Hyg. 1932. Heft 3/4.) — Kallert, Untersuchungen über die Beschaffenheit käuflichen Hackfleisches. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1930. Nr. 35.) — Schönberg, Über Erfahrungen mit dem Wurstuntersuchungsverfahren nach Brekenfeld. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. 1933. Heft 17.) — Stroscher, Konservierung und Keimzahlen des Hackfleisches. (Arch. f. Hyg. Bd. 40. 1901.) — Lund und Schröder, Tierärztliche Wurstuntersuchung. Hannover 1930. — Zeller und Beller, Die Keimvermehrung in Fleisch und Hackfleisch unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. Jahrg. 40. 1930. Heft 12.)

Ein Verfahren zur quantitativen Gewinnung von Bakterientrockensubstanz aus flüssigen Nährmedien.

[Aus dem Botan. Institut der Universität Innsbruck mit von besonderer Seite zur Verfügung gestellter Apparatur.]

Von **Ernst Grundmann.**

Nachprüfung bisheriger Untersuchungsverfahren.

Zur Beantwortung von Fragen der Ernährung des Bacillus mycoides (Flügge) benötigte ich ein Verfahren, mit dem man zuverlässig die Bakterientrockensubstanz getrennt von Nährmedien gewichtsmäßig erfassen und weiter zur Bestimmung des Stickstoffgehalts verarbeiten kann. Von den bisher für ähnliche Zwecke gebräuchlichen Untersuchungsverfahren kam die Fällungsmethode von Rubner (1) für die vorgesehene Bestimmung nicht in Betracht, da einmal die für die Trockengewichtsbestimmungen notwendige Trennung der gefällten Bakterien vom Fällungsmittel Schwierigkeiten bereitet hätte, und außerdem mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß ein Teil der im Nährmedium enthaltenen Stoffe mit den Bakterien ausgefällt wird, und so irreführende Ergebnisse erhalten werden. Eine nephelometrische Methode, wie sie Schütz (2) in seiner Arbeit über Choleravibrionen angewendet hat, stößt bei Bakterien wie z. B. Bacillus mycoides, der fast nur in Flocken wächst, die nicht zu einer gleichmäßigen

Trübung durchzuschütteln sind, ebenfalls auf Schwierigkeiten. Ein Auszählen ist vielfach, wie auch bei Bacillus mycoides, wegen der Kettenbildung nicht gut möglich.

Zunächst versuchte ich, durch Zentrifugieren die Bakterien von der Nährflüssigkeit zu trennen. Die Ergebnisse waren unbefriedigend. Nach zweistündigem Zentrifugieren einer Bouillonkultur bei 3500 Umdrehungen in der Minute wurden im obersten völlig klaren Teil der Flüssigkeitssäule des Zentrifugierglases noch etwa 20 000 Keime in einem Kubikzentimeter gefunden. Um eine genaue Volumenmessung der abzentrifugierten Bakterienmasse vornehmen zu können, benutzte ich Röhrchen nach den Angaben von Rosenthal (3), die in eine graduierte Kapillare auslaufen. Diese Gläser hatten aber den Nachteil, daß ein Teil der Bakteriensubstanz an der Stelle haften blieb, an der das Röhrchen in die Kapillare übergeht. Auch ist bei einer solchen Methode zu bedenken, daß mit der Bakterienmasse ein unkontrollierbarer Teil des Nährmediums zwischen den in der Kapillare sitzenden Bakterien bleibt, der bei der Trockensubstanz- und Stickstoffbestimmung erhebliche Fehler ergeben würde.

Nunmehr versuchte ich mit einer der Filtrationsmethoden zum Ziele zu gelangen. Dabei bereitete es besondere Schwierigkeiten, daß mit der Filtration größerer Kulturmengen gerechnet werden mußte, da ich bestrebt war, durch Verwendung großer Bakterienernten möglichst zuverlässige Trockengewichts- und Stickstoffzahlen zu erhalten.

Glinka-Tschernorutzki (4) gibt in ihrer Arbeit an, daß sie den Bac. mycoides durch gehärtete Filter filtrierte. Zur Prüfung dieser Angaben benutzte ich das gehärtete Filter Nr. 575 von Schleicher und Schüll, Durchmesser 18,5 cm. Eine Bouillonkultur wurde durch ein solches gefaltetes Filter filtriert. Die Filtrationsgeschwindigkeit war von Anfang an sehr klein, ließ dann immer mehr nach. In einer Stunde waren etwa 10 ccm filtriert. Schließlich ging nur noch alle 2 Minuten ein Tropfen durch. Auch bei Benutzung einer Nutsche, die an einer Wasserstrahlpumpe angeschlossen war, war die Filtrationsgeschwindigkeit nicht viel größer. In einer Stunde wurden etwa 12 ccm filtriert. Während in diesem Filtrat etwa 5—600 000 Keime in 1 ccm gefunden wurden, enthielt das ohne Saugkraft gewonnene nur etwa 300 000 Keime in 1 ccm. Leider hat Glinka-Tschernorutzki nicht angegeben, welches Filter sie benutzt hat.

Die Berkefeld-Kerze kommt für die Untersuchungen in der von Hesse angegebenen Verwendungsweise (Ansaugen einer Kieselguraufschwemmung vor Beginn der eigentlichen Filtration) nicht in Frage.

Für die weiteren Filtrationsversuche wurden zunächst die Porzellanfilter mit Sinterplatten der Staatlichen Porzellanmanufaktur Berlin benutzt. Durch den Tiegel Nr. A1 filtrierte ich 100 ccm Bouillonkultur (5 Tage alt) in 2 Stunden. Im Filtrat waren in 1 ccm ca. 30 Keime, eine Menge, die bei gravimetrischen Bestimmungen unbedingt in Kauf genommen werden könnte. Da man aus einem solchen Filter die Bakterienmenge nicht ohne weiteres herausbringen kann, sollte das Filter nach der Bestimmung der Gewichtszunahme zum Aufschluß für die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in Schwefelsäure gekocht werden. Diese Behandlung vertragen die Filter aber nicht, denn sie wurden danach so durchlässig, daß sie zu einem zweiten Versuch unbrauchbar waren.

Die Glassinterfilter von Schott & Genossen, Jena, 1 G5 (Porenweite 1,5 μ) sind zur Bakterienfiltration kleiner Mengen sehr gut brauchbar. Das

Filtrat ist vollkommen steril. Nur arbeiten sie viel zu langsam. Für 50 ccm Bouillonkultur wurden unter Benutzung einer Wasserstrahlpumpe 5½ Stunden gebraucht. Da sich auf der Oberfläche der Sinterplatte eine zähe Bakterienschicht bildete, wurde versucht, die Bildung dieser Schicht durch Aufbringen einer Asbestschicht auf die Sinterplatte zu vermeiden. Bei dieser Anordnung wurden von einer Bouillonkultur die ersten 40 ccm Filtrat in ca. 14 Minuten gewonnen, die weiteren 20 ccm erst in 32 Minuten, die restlichen 40 ccm der Kultur waren in angemessener Zeit überhaupt nicht mehr zu filtrieren. Die Tiegel wurden ebenfalls in Schwefelsäure gekocht. Äußerlich waren irgendwelche Schäden nicht zu bemerken. Aber bei späteren Filtrationen zeigte sich, daß die Filtrationsgeschwindigkeit weiter stark nachgelassen hatte. Die Filtrate der so behandelten Tiegel waren wieder vollkommen einwandfrei. Für eine Filtration großer Kulturmengen kommen diese Filter jedoch nicht in Frage.

Es wurden dann die E.K.-Schichten (Entkeimungsschichten) der Seitzwerke, Kreuznach, auf ihre Brauchbarkeit geprüft. Es war beabsichtigt, die Trockengewichtszunahme dieser E.K.-Schichten nach der Filtration und dem Auswaschen festzustellen, und dann die Schicht zur Stickstoffbestimmung aufzuschließen. Die Filtrationsgeschwindigkeit ist ziemlich groß. Die Filtrate waren immer vollkommen keimfrei. Wie durch eigene Untersuchungen festgestellt wurde, enthalten die Filter (Größe 6) selbst aber ca. 2,9 bis 3,1 mg Stickstoff. Auch durch Auswaschen mit H_2O war der Stickstoffgehalt nicht zu verringern. Bei den Filtrationen fiel auf, daß in den Filtraten Flocken und Fasern schwammen. Zwei Filter, die zunächst mit 500 ccm H_2O ausgewaschen wurden, zeigten einen Trockengewichtsverlust von je 32,0 bzw. 42,3 mg. Bei einer weiteren Auswaschung mit 500 ccm H_2O trat ein nochmaliger Gewichtsverlust von je 12,8 bzw. 11,9 mg ein. Diese Gewichtsverluste, die, wie zuerst angenommen wurde, durch das Auswaschen der Flocken und Fasern entstanden waren, hatten sich durch das Unterlegen eines gehärteten Filters (Nr. 575, Schleicher & Schüll) vermeiden lassen. Es stellte sich aber bald heraus, daß trotz diesen Vorsichtsmaßregeln bei einer neuen Filterscheibe die erstmalige Filtration von 1200 ccm H_2O einen Gewichtsverlust von 20,8 mg aufwies und bei einer Wiederholung des Versuches nochmals ein Verlust von 9,4 mg eintrat.

Diese Gewichtsverluste können nur darauf beruhen, daß aus dem Filter Stoffe in Lösung gehen und so das gehärtete Filter passieren. Dazu kommt, daß die E.K.-Schichten, wie nachstehende Versuche zeigen, Teile der Nährlösung adsorptiv so festhalten, daß ein Auswaschen praktisch nicht durchführbar ist. Um die Adsorptionswirkung der Filter zu erproben, wurden folgende Versuche angestellt:

Durch verschiedene Filter wurden je 500 ccm Peptonlösung filtriert und mit verschiedenen Mengen 0,85 proz. Kochsalzlösung nachgewaschen.

1. Normales Filter mit 700 ccm NaCl-Lg gewaschen, N-Gehalt . 3,0 mg
2. Filter mit Pepton ohne Nachwaschen, N-Gehalt . . . . . . 7,20 „
3. Filter mit Pepton und mit 200 ccm NaCl-Lg nachgewaschen, N-Gehalt . . . . 4,67 „
4. Filter mit Pepton und mit 500 ccm NaCl-Lg nachgewaschen, N-Gehalt . . . . 4,67 „
5. Filter mit Pepton und mit 700 ccm NaCl-Lg nachgewaschen, N-Gehalt . . . . 4,86 „

Alle diese Tatsachen machen die Verwendung der E.K.-Schichten für quantitative Versuche unmöglich.

Schließlich wurden die Membranfilter nach Zsigmondy (5) zu den Versuchen benutzt. Diese Filter werden auf eine maximale Porenweite geprüft und geeicht. Ihre Filtrationsgeschwindigkeit schwankt bei gleicher maximaler Porenweite sehr stark; sie hängt davon ab, wie groß der prozentuale Anteil der größten Poren an der Gesamtoberfläche ist. Da die Membranfilter nicht ohne Schädigung getrocknet werden können, mußte die Bakteriensubstanz vom Filter entfernt werden. Im vorliegenden Falle konnten durch die Membranfilter (Durchmesser 15 cm) 2 Liter Kultur filtriert werden, ohne befürchten zu müssen, daß Verluste irgendwelcher Art eintreten. Die Membranfilter mit der maximalen Porenweite 0,75 μ ergaben bei Bacillus mycoides stets sterile Filtrate.

Angewandte Kultur- und Untersuchungsverfahren.

Zu den Untersuchungen sollten möglichst große Ernten an Bakteriensubstanz erzielt werden, um den prozentuellen Fehler möglichst klein zu gestalten. Deshalb wurden für jede Kultur 500 ccm Nährlösung angesetzt. Als Kulturgefäße wurden Erlenmeyer-Kolben von 1,5 Liter Inhalt aus Jenaer Glas benutzt. Diese Größe wurde gewählt, um durch eine möglichst große Oberfläche und geringe Schichtdicke der Nährlösung die Sauerstoffzufuhr zu begünstigen. Die Kolben wurden mit Glasbedeckschalen geschlossen und sterilisiert, um zu vermeiden, daß bei trockenem Sterilisieren Bestandteile der sonst üblichen Stopfen aus nicht entfetteter Watte in die Versuchsgefäße oder Wattefasern in die Kultur gelangen. Die Nährlösungen mußten vollkommen blank sein und durften auf den zum Zurückhalten des Bac. myc. benutzten Membranfiltern keinen Rückstand hinterlassen. Aus diesem Grunde wurden alle Nährlösungen zunächst auf einen etwas höheren Alkaleszenzgrad gebracht (p_H 8,5), als er durch das Wachstum von Mycoides verursacht werden konnte, dann wurden die durch Ausfällungen getrübten Lösungen durch Papierfilter filtriert, auf die gewünschte p_H-Zahl eingestellt, schließlich durch ein Membranfilter mit der Porenweite 0,4 μ filtriert. Die Kulturkolben wurden mit der Nährlösung an 3 Tagen je 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert. Da späterhin die gewachsene Kultur durch ein Filter mit der Porenweite 0,75 μ filtriert wurde, konnte man annehmen, daß nach der geschilderten Vorbehandlung auf dem Filter ausschließlich Bakteriensubstanz zurückgehalten wurde. Außerdem wurde jede Kultur vor der Filtration noch mikroskopisch auf eventuell vorhandene Koagulate oder sonstige Veränderungen geprüft.

Die Arbeitsmethode mit den Membranfiltern war folgende: Nach der Filtration der zu untersuchenden Kultur wurde mit etwa 50 ccm 0,85 proz. NaCl-Lg nachgewaschen; mit NaCl-Lösung und nicht mit destilliertem Wasser, um ein eventuelles Platzen der Bakterienleiber und damit einen Verlust an Bakteriensubstanz zu vermeiden. Es ist darauf zu achten, daß die NaCl-Lg vollständig abgesaugt wird. Das von dem Filtrationsapparat abgehobene Filter wurde nun auf eine an einem Stativ befestigte stumpfwinklige Glasplatte mit Objektträgerklemmen befestigt. Mittels einer Gummifahne, wie man sie zu quantitativen chemischen Arbeiten benutzt, und mittels ca. 50 ccm destillierten Wassers wischt und spült man die Bakteriensubstanz in ein Wägegläschen. Zum kräftigen Abspülen benutzt man den Druck des destillierten Wassers, das aus einer hochstehenden Flasche mit einem Schlauch, der mit einer fein ausgezogenen Glasspitze versehen ist, entnommen wird.

In dem Wägegläschen wird die Bakteriensubstanz nach dem Abdampfen des Wassers bei 105° bis zum konstanten Gewicht getrocknet und gewogen. Nach der Wägung wird die zum Aufschluß benötigte H_2SO_4 in das Wägegläschen gebracht, leicht erwärmt, um die Substanz gut vom Glas zu lösen, und in einen Kjeldahl-Kolben übergespült. Um ein verlustloses Überspülen zu gewährleisten, ließ ich mir Wägegläschen anfertigen, die mit einer kleinen Tülle versehen waren.

Prüfungsversuche.

Die Genauigkeit dieser Methode wurde in zahlreichen Versuchen geprüft. Zu den Versuchen wurde zum Teil Bact. coli benutzt, weil die Kulturen dieser Bakterienart ein gleichmäßiges Aufschwemmen und damit besser vergleichbare Versuche ermöglichen als die des Bac. myc. So wurde z. B. von einer in 0,85 proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmten Colikultur eine Hälfte der Aufschwemmung direkt in einem Wägegläschen eingedampft, getrocknet und gewogen, die andere Hälfte durch ein Membranfilter filtriert und der Rückstand wie oben beschrieben behandelt.

10 ccm der unfiltrierten Coliaufschwemmung ergaben einen Rückstand von 110,8 mg, 10 ccm der filtrierten einen solchen von 25,5 mg.

Da in dem Gewicht von 110,8 mg das Gewicht des NaCl mit inbegriffen ist, müssen in diesem Falle 85 mg abgezogen werden; es ergeben sich also für 10 ccm der unfiltrierten Aufschwemmung 25,8 mg Bakterientrockensubstanz, während auf dem Filter 25,5 mg zurückgehalten wurden. Die Differenz von 0,3 mg liegt innerhalb der Wägefehlergrenze. Bei mehreren Versuchen dieser Art war der Unterschied niemals über 0,4 mg.

Eine weitere Fehlerquelle könnte darin liegen, daß die Bakteriensubstanz auf dem Filter trotz dem Nachwaschen mit Kochsalzlösung vom Nährmedium einen Teil zurückhält. Wie der nachstehende Kontrollversuch zeigt, trifft diese Befürchtung nicht zu:

Zwei Kolben mit je 500 ccm Nährlösung (Pepton und Glyzerin) wurden beimpft mit Bac. myc. Nach erfolgtem Wachstum wurden beide Kolbeninhalte gemischt und nun in zwei verschieden großen Fraktionen filtriert.

Fraktion	a	b
Trockensubstanz in mg	48,6	110,8
Stickstoff in mg	4,83	11,23
$\frac{\text{mg N}}{\text{mg Bakt.}}$	0,099	0,103

a = 300 ccm Kultur b = 700 ccm Kultur

Nachgewaschen wurde jeder Rückstand mit 50 ccm NaCl-Lösung. In beiden Fällen wurde also praktisch derselbe Stickstoffgehalt für die Gewichtseinheit der Bakterientrockensubstanz gefunden.

Die Stickstoffbestimmung geschah bei allen Versuchen nach Kjeldahl in einem Mikroapparat. Als Vorlage diente n/70 HCl und zurücktitriert wurde mit n/70 NaOH mit Methylrot als Indikator. Durch den Apparat wurde während der Destillation ein Luftstrom gesogen. Um zu verhindern, daß mit dieser Luft in irgendeiner Form bestimmbarer Stickstoff in die Analyse gelangt, wurde, was am Apparat nicht vorgesehen war, eine Waschflasche mit H_2SO_4 vorgeschaltet.

Schlußfolgerung.

Für Bakterien der Größenordnung coli oder mycoides sind nach den geschilderten Versuchen die Membranfilter nach Zsigmondy mit einer maximalen Porenweite von 0,75 μ bei entsprechenden Vorsichtsmaßregeln sehr wohl geeignet, die Backterientrockensubstanz aus einer Nährlösung quantitativ zu erfassen und der Analyse zuzuführen.

Literatur.

1. Rubner, M., Arch. f. Hygiene. Bd. 48. S. 260. — 2. Schütz, Fr., Ztschr. f. Hygiene. Bd. 112. 1931. — 3. Dichtl, G., Arch. f. Hygiene. Bd. 89. 1920. S. 47. — 4. Glinka-Tschernorutzky, H., Biochem. Ztschr. Bd. 206. 1929. S. 301. — 5. Jander, G. und Zakowsky, J., Kolloidforsch. in Einzeldarst. Bd. 9. Leipzig 1929: Membranfilter, Cella- und Ultrafeinfilter.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1933. 2. neu bearb. Auflage.

Bd. I, Teil 1: **Löhnis †**, Futtermittelbakteriologie. 105 S. Geh. 10.50 RM.

Von diesem Teil des Handbuches kann man kaum sagen, daß er „neu bearbeitet" sei. Aufbau und Stoffeinteilung sind vollkommen die gleichen geblieben wie bei der ersten Auflage. Nur der Abschnitt, der über die Mitwirkung von Mikroorganismen bei der Bereitung von Silofutter handelt, ist etwas vollständiger umgearbeitet und erweitert, im übrigen sind die vorgenommenen Veränderungen und Ergänzungen sehr geringfügig. Daher kann dieser erste Teil keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit erheben, einzelne Abschnitte, wie z. .B. der über Zersetzung stärkereicher Futtermittel, sind sogar total veraltet. Es dürfte kaum im Sinne des verstorbenen Herausgebers gelegen haben, daß die „Neubearbeitung" so unvollkommen vorgenommen worden ist, denn die fast restlose Erfassung der entsprechenden Spezialliteratur war gerade seine Stärke.

Bd. II, Teil 1: **Ruschmann, G.**, Düngerbakteriologie. 158 S. Geh. 15.— RM.

Auch in diesem Teile ist die Gliederung des Stoffes im großen und ganzen gegenüber der ersten Auflage unverändert geblieben. Ob sich hier der Verf. absichtlich an die Art der Darstellung durch den ersten Bearbeiter gehalten oder unbewußt die Ergänzungen in der gleichen Form gebracht hat, ist nicht klar, doch bedauerlich. In einem modernen Handbuch soll der Stoff zwar objektiv, aber mit starker Kritik verarbeitet sein, denn das Handbuch soll ja nicht nur dem engeren Fachmann als Nachschlagewerk dienen, sondern — wie im vorliegenden Falle — auch dem der Materie etwas ferner stehenden Gelehrten sowie dem gebildeten Landwirt eine klare Erkenntnis des derzeitigen Standes düngerbakteriologischer Forschung vermitteln. Die Ergebnisse der verschiedensten Autoren sind jeweils unter einem einheitlichen Gesichtspunkte straff und übersichtlich zusammenzufassen und nicht nur, wie das mehrfach geschehen ist, einfach chronologisch aneinanderzureihen. Dabei hat selbstverständlich alles Unwesentliche in den Hinter-

grund zu treten, damit das Wesentliche um so deutlicher erkennbar wird. Das ist aber leider häufig nicht der Fall.

So werden hier z. B. Untersuchungen von W. Wolf aus den Jahren 1889—1903, bei denen die Veränderungen eines Gemisches von 2 kg feuchten Mistes und etwa 380 g Superphosphat + Kainit verfolgt wurden, zweimal ausführlich erwähnt (S. 25 u. 59), obwohl sie in solcher Versuchsanordnung weder praktisches noch theoretisches Interesse besitzen.

Daß auch augenfällige Druckfehler der ersten Auflage unverändert in die zweite übernommen sind, so S. 49, wo angegeben ist, daß aus 1 g Rinder- bzw. Pferdekot innerhalb 24 Std. 1,25 resp. 1,95 g Kohlensäure entstehen und diese Zahlen noch zu weiteren Berechnungen Verwendung finden, und es statt 1 g Kot natürlich heißen muß 1 kg, sei nur nebenbei erwähnt.

Andererseits muß anerkannt werden, daß die neuere Literatur mit Fleiß zusammengetragen wurde und in diesem Teil des Handbuches eine vollkommenere Übersicht über das Schrifttum der Düngerbakteriologie vorliegt. Stapp.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Reid, A., Manometrische Messung der sauerstofflosen Atmung. (Versuche mit Essigbakterien.) (Biochem. Z. Bd. 242. 1931. S. 159—169.)

An Stelle des Sauerstoffes können Essigbakterien andere Wasserstoffakzeptoren wie Methylenblau oder Chinon zum Zwecke der Atmung verwenden. Diese von H. Wieland entdeckte sauerstofflose Atmung der Essigbakterien wurde vom Verf. mit Hilfe manometrischer Methoden untersucht. Als Versuchsmaterial diente Bact. pasteurianum. Salzsaures Methylenblau wird in neutraler Lösung zur Leukobase reduziert, welche in Wasser schwer löslich ist. Es entsteht eine äquivalente Menge freier Salzsäure, welche aus neutralem Bikarbonat-Kohlensäurepuffer Kohlensäure frei macht, die manometrisch gemessen werden kann. Im Gasraum der Apparatur befinden sich zu Beginn des Versuches 25 Vol.-% CO_2 in Argon. Da bei der Verwendung lebender Zellen im allgemeinen saure Reaktionsprodukte wie Kohlensäure, Essigsäure, Brenztraubensäure usw. entstehen, wird mehr Kohlensäure entwickelt als der reduzierten Farbstoffmenge äquivalent ist. Aus der Menge zugesetzen Farbstoffes und der Gesamtmenge entwickelter Kohlensäure kann jedoch das Verhältnis zwischen Farbstoffverbrauch und saurem Oxydationsprodukt errechnet werden. Bei Verwendung von Chinon als Akzeptor entstehen nur neutrale Reaktionsprodukte. Reduziert man Chinon durch lebende Zellen, so entspricht die beobachtete Kohlensäureentwicklung den entstandenen sauren Stoffwechselprodukten.

R. Koch (Berlin).

Meyerhof, O. und **Schulz, W.,** Über die Abhängigkeit der Atmung des Azotobakter vom Sauerstoffdruck. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 35—49.)

Die Atmungsgröße des Bact. azotobakter chroococcum zeigt eine Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration, wie sie bisher bei streng aeroben Bakterien noch nicht beobachtet wurde. Das Maximum der Atmungsgeschwindigkeit liegt bei 15—20% Sauerstoff. Mit absinkender Sauerstoffkonzentration fällt die Atmung um so stärker ab, je höher der QO_2-Wert (ccm Sauerstoff pro Milligramm Trockengewicht und Stunde) ist. Beispielsweise beträgt der QO_2-Wert bei 10° C für Bact. candicans

14, für Bäckerhefe 15, für Torula utilis 20—25, für Bact. azotobakter dagegen um 1000. Demnach scheint das Atmungsferment je nach Größe der Atmung bei niederem O_2-Druck nicht völlig mit Sauerstoff gesättigt zu sein. Dies läßt sich prüfen mittels Hemmung der Atmung durch CO. Tatsächlich nimmt die CO-Hemmung der Atmung mit abnehmendem Sauerstoff nicht zu, sondern ab. R. Koch (Berlin).

Baudisch, O., Über den Einfluß von Eisenoxyden und Eisenoxydhydraten auf das Wachstum von Bakterien. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 265—277.)

Gewisse Bakterien können in gewöhnlicher Nährbouillon nur nach Zusatz von Blut und eventuell vitaminhaltigen Extrakten gedeihen. Es wird gezeigt, daß der Zusatz von Blut oder gewaschenen Blutkörperchen (X-Faktoren) ersetzt werden kann durch bestimmte Eisenoxyde. Aus reinstem Carbonyl-Eisen hergestellte Präparate von Fe_3O_4 und Fe_2O_3 waren imstande, in ähnlicher Weise wie Blut das Wachstum von B. influenzae, B. haemoglobinophilus canis, B. lepisepticum und Hühnercholerabazillen in Bouillon zu fördern. Allen wirksamen Eisenoxyden war die Fähigkeit zur Absorption von Sauerstoff und eine Peroxydasewirkung gemeinsam. Die Sauerstoff-Absorption ist für alle bisher als X-Faktoren angewandten Stoffe charakteristisch und scheint von grundlegender Bedeutung zu sein. R. Koch (Berlin).

Riemsdijk, M. van, Entwicklungszyklus des Bacillus tuberculosis auf Agar-Agar nach 17monatiger Beobachtung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 503—517.)

Der Tuberkelbazillus hat einen wider Erwarten verwickelten Entwicklungszyklus, außerordentliche Mutationskraft und ungewöhnliches Anpassungsvermögen. Auch die Lebensdauer ist beachtenswert, z. B. blieb eine Kultur 14 Monate auf Agar ohne jeden Schaden. Weiteres über die verschiedene Entwicklung der Kolonie im Original.

Rodenkirchen (Duisburg).

Kahn, M. C. und Nonidez, J. F., Nachweis von nicht säurefesten Stäbchen und Granula in Vertikalschnitten durch Kolonien des Mycobacterium tuberculosis. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 499—502.)

Die Ansicht von Oerskov, wonach die äußere Zone der Koloniepheripherie die älteste wäre und die nichtsäurefesten Stäbchen und Granula für alte degenerierte Formen gehalten werden, scheint nicht haltbar zu sein. Verff. erklären sich für das Gegenteil aus folgenden Gründen: 1. In Vertikalschnitten von Mycobakterienkolonien, die bereits zu wachsen aufgehört hatten, wird die Zone der Peripherie fast nicht mehr gefunden, ebensowenig nicht säurefeste Formen. 2. Während die jungen, dünnen, weißen Häutchen auf flüssigem Substrat unzählige Mengen nichtsäurefester Stäbchen aufwiesen, zeigte der faltige, krustige, ältere, gelbliche Teil der Membran nur wenige solcher Formen. 3. Studien über den Entwicklungsgang der einzelnen Zelle ergab, daß die nichtsäurefesten Stäbchen und Granula die jüngsten Formen vorstellen und daß die säurefesten Stäbchen mit den dunkler gefärbten, intrazellulären Elementen den ersten Schritt zur Bildung einer neuen Generation darstellen. Rodenkirchen (Duisburg).

du Mont, H. und Anderson, R. J., Über Polysaccharide in Tuberkelbazillen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 211. 1932. S. 97—102.)

Die Gewinnung von Polysacchariden aus dem wässerigen Rückstand der Äther-Alkoholextraktion feuchter Tuberkelbazillen wird beschrieben. Aus menschlichen Tuberkelbazillen konnte mit basischem Bleiazetat ein schwach reduzierendes Produkt gewonnen werden, das nach der Säurehydrolyse Mannose, d-Arabinose und Inosit lieferte. Das aus Vogel-Tuberkelbazillen gewonnene Polysaccharid, das möglicherweise ein Trisaccharid ist, konnte zu Mannose und Inosit aufgespalten werden. R. Koch (Berlin).

Ludewig, St. und Anderson, R. J., Über Polysaccharide in Tuberkelbazillen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 211. 1932. S. 103—110.)

Die aus dem wässerigen Rückstand der Äther-Alkoholextraktion von menschlichen Tuberkelbakterien mit Hilfe von basischem Bleiazetat fällbaren Polysaccharide wurden weiter gereinigt und untersucht. Nach Zerlegung der Bleiazetatfällung wurde ein unreines Polysaccharid gewonnen, das wieder in Wasser gelöst und abermals mit basischem Bleiazetat gefällt wurde. Aus dem Filtrat konnte mit Ammoniak eine weitere Polysaccharidfraktion gewonnen werden, die bedeutend reiner war als die erste Fällung. Durch Azetylierung und Verseifung dieser Fraktion wurde ein reines Produkt gewonnen, das frei von Phosphor und nahezu frei von Stickstoff war. Die Hydrolyse lieferte 66% reduzierende Zucker, und zwar konnten 27% d-Mannose und 33% d-Glukose neben etwas Arabinose isoliert werden. Im nichtreduzierenden Anteil des Polysaccharids fanden sich geringe Mengen Inosit. Wahrscheinlich enthält dieser Anteil des Polysaccharids noch andere Stoffe. R. Koch (Berlin).

Chargaff, E., Über die Lipoide des Bacillus Calmette-Guérin (B. C. G.). (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 217. 1933. S. 115—137.)

Die Lipoide der avirulenten Calmette-Guérin-Bazillen wurden eingehend chemisch untersucht und mit denjenigen der pathogenen Menschen- und Rindertuberkelbakterien verglichen. Verf. hofft auf diesem Wege Aufschlüsse über die Chemie der immunisierenden Wirkung zu erhalten. Es zeigte sich, daß die B. C. B. einen höheren Gehalt an chloroformlöslichem Wachs besitzen als die Menschen- und Rindertuberkelbazillen. Die Fette scheinen bei allen drei Arten Tuberkelbazillen nur zum Teil aus echten Glyzeriden zu bestehen. Ein Teil der Fettsäuren scheint mit Polysacchariden verestert zu sein. Bemerkenswert ist das vollständige Fehlen von Sterinen im unverseifbaren Anteil der Fettfraktion. An gesättigten Fettsäuren fanden sich im B. C. G.-Fett u. a. Palmitin- und Cerotinsäure, an ungesättigten vorwiegend Ölsäure. Auch gesättigte flüssige Fettsäuren wurden gefunden. Ob die verschiedene biologische Wirksamkeit der Calmette-Guérin-Bazillen und der bovinen Tuberkelbazillen auf Unterschiede in der chemischen Konstitution der Wachshüllen zurückzuführen ist, kann erst durch weitere Untersuchungen festgestellt werden. R. Koch (Berlin).

Wrede, F., Über das Prodigiosin, den roten Farbstoff des Bacillus prodigiosus. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 210. 1932. S. 125—128.)

Die Bruttoformel des Prodigiosins ist $C_{20}H_{25}N_3O$. Das Sauerstoffatom ist in einer $O \cdot CH_3$-Gruppe gebunden. Die Zerewitinoffbestimmung ergab, daß 2 aktive Wasserstoffatome im Molekül vorhanden sind. Der Farbstoff bildet ein gut kristallisierendes Zinksalz der Zusammensetzung $(C_{20}H_{24}N_3O)_2Zn$. Dieses Zinksalz ist in den Bakterienkulturen in wechselnder Menge, mitunter bis zur Hälfte der ganzen Farbstoffmenge, vorhanden. Das Zink stammt aus dem Nährboden. Der freie Farbstoff ist ziegelrot, das Zinksalz mehr weinrot gefärbt. Die Menge des produzierten Farbstoffs ist vom Zinkgehalt des Nährbodens unabhängig. Ob in absolut zinkfreien Nährböden irgendwelche Störungen der Bakterienentwicklung oder der Farbstoffbildung auftreten, wurde noch nicht untersucht.

R. Koch (Berlin).

Ambrus, P., Banga, I. und Szent-Györgyi, A., Beiträge zur Methodik der Messung des Sauerstoffverbrauchs, des Respirationsquotienten und der Methylenblaureduktion der Gewebe und der Hefe. (Biochem. Z. Bd. 240. 1931. S. 473—477.)

Das innere Einsatzrohr des Barcroft-Manometers, das zur Aufnahme der Natronlauge dient, wird durch laugehaltige Filtrierpapierscheibchen ersetzt. Die absorbierte CO_2-Menge kann leicht durch Ansäuern des Filtrierpapiers im Barcroft-Respirometer manometrisch bestimmt werden. Da bei genauen Vergleichsversuchen die Reduktionszeit des Methylenblaus bei der Bestimmung der Gewebsatmung nicht mit der manometrisch gemessenen Sauerstoffabnahme übereinstimmte, gingen Verff. so vor, daß das Gewebe zunächst ohne Methylenblau 20 Minuten lang bei 37° C in der Versuchslösung behandelt und dann erst Methylenblau zugesetzt wurde. Die leicht oxydierbaren Stoffe waren inzwischen verschwunden und störten die Methylenblaureduktion nicht mehr. Wird eine Hefesuspension anaerob mit Methylenblau bebrütet, so findet man eine längere Reduktionszeit als bei Wiederholung des Versuches nach Oxydation des Farbstoffes durch Lüftung. Zur Erklärung dieser Erscheinung wird angenommen, daß die Durchlässigkeit der Hefezellmembran für Methylenblau beschränkt ist und dementsprechend eine gewisse Diffusionszeit zum Eindringen des Farbstoffes in die Zelle erforderlich ist. Bei Wiederholung des Versuches nach Lüftung erscheint die Reduktionszeit um einen der Diffusionszeit entsprechenden Betrag verkürzt. R. Koch (Berlin).

Jonáš, V., Über neue vitale Eigenschaften des Hefeplasmas und Darstellung sowie biochemische Bedeutung bisher unbekannter Hefeformen. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 140—158.)

Verf. ist der Ansicht, daß das Leben der Hefe nicht an die Zelle gebunden ist, sondern an das Plasma. Durch Desinfektionsmittel, Hitze oder andere zellschädigende Prinzipien abgetötete oder vermehrungsunfähige Hefezellen sollen imstande sein, zu andersartigen Formen auszuwachsen, die im einzelnen beschrieben und abgebildet werden. Es handelt sich dabei nicht nur um Groß- und Kleinformen von Hefezellen, sondern auch um sog. Sporoidkörper, Plasomen und symplasmatische Formen, die alle unter gewissen Kulturbedingungen vermehrungsfähig und ineinander überführbar sein sollen, so daß wieder normale Hefezellen aus den genannten Plasmateilen entstehen. Obwohl Verf. betont, stets sehr sorgfältig unter sterilen

Bedingungen gearbeitet zu haben, sind in der vorliegenden Arbeit Angaben enthalten, die Anlaß zu starken Zweifeln in dieser Hinsicht geben. Die vom Verf. geäußerten Ansichten, die in Parallele zur Lehre von der Bakterienzyklogenie zu setzen sind, dürften für die Hefenkunde bisher einzigdastehend sein. R. Koch (Berlin).

Weichherz, J. und **Merländer, R.**, Untersuchungen über das Hefefett. I. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 21—27.)

Neben bisher noch nicht isolierten und identifizierten höheren, nicht flüchtigen Fettsäuren waren höchstwahrscheinlich Kaprinsäure und mit Sicherheit Valeriansäure im Hefefett nachweisbar. R. Koch (Berlin).

Weiss, G., Untersuchungen über das Hefefett. I. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 269—273.)

Die therapeutische Wirksamkeit des Hefeinhalts scheint von der Menge und Zusammensetzung der Fette abhängig zu sein. Verf. untersuchte ein Rohfett mit dem Ziel, später diejenigen Bedingungen zu finden, unter denen eine Änderung der Fettzusammensetzung erreicht werden kann. Es ergab sich, daß oxydierte Fettsäuren und hochmolekulare, ungesättigte Oxysäuren im Hefefett vorkommen. R. Koch (Berlin).

Scharrer, K. und **Schwartz, W.**, Die Wirkung des Jods auf Hefe. II. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 218—233.)

In sehr geringer Konzentration wirken sowohl elementares Jod als auch Jodid- und Jodationen sowie einige organische Jodverbindungen (Uroselektan, Yatren, Alival, Jodäthylthiosinamin) beschleunigend auf das Hefewachstum, ohne die Zellernte nach beendeter Gärung zu beeinflussen. Höhere Konzentrationen obiger Stoffe wirken mehr oder weniger giftig auf die Hefe. R. Koch (Berlin).

Boysen-Jensen, P., Über die Bildung eines Wachstumsregulators durch Aspergillus niger. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 243—249.)

Die käuflichen Peptonpräparate enthalten zum Teil Wachstumsregulatoren, die die Wachstumsgeschwindigkeit der Avenacoleoptile beschleunigen. Es wird gezeigt, daß bei der Herstellung dieser Peptone durch peptische Verdauung von Fibrin, Hämoglobin und Casein keine Wachstumsregulatoren gebildet werden. Dagegen vermag Aspergillus niger auf pepton- oder hämoglobinhaltigen Nährlösungen beträchtliche Mengen eines Wachstumsregulators zu bilden; man kann ihn auf diese Weise in größerer Menge darstellen. R. Koch (Berlin).

Paxton, G. E., Consistent mutation of Helminthosporium sativum on a no-nitroga medium. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 617—619, 1 fig.)

Kulturen von Helminthosporium sativum bildeten auf Czapeks Agar regelmäßig Sektoren, wenn die Stickstoffquelle (KNO_3 oder $NaNO_3$) fortgelassen wurde. Diese Mutanten erwiesen sich als beständig. Wurde aus dem Nährboden außer $NaNO_3$ bzw. KNO_3 auch Rohrzucker fortgelassen, so wurden kaum Sektoren gebildet. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Allen, R. F., A cytological study of the teliospores, promycelia, and sporidia in Puccinia malvacearum. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 572—586, 6 figs.)

Verf. berichtet eingehend über zytologische Untersuchungen über die Bildung und Entwicklung der Teleutosporen des Promyzels und der Sporidien bei Puccinia malvacearum. Die Teleutosporen werden an einer zweikernigen Basalzelle gebildet, aus der durch Verzweigung nacheinander verschiedene Sporen hervorgehen. Jede Spore teilt sich in die Sporen- und Trägerzelle, die Sporenzelle teilt sich wieder und bildet so die 2 Zellensporen. Die 2 Kerne jeder Zelle verschmelzen, ebenso die beiden Nucleolen. Wahrscheinlich paaren sich die Chromatinstränge. Die dünnen langen Chromosomen verkürzen und verdicken sich. Die Nucleole und Kernmembrane verschwinden. Eine scharf ausgeprägte Äquatorialplatte wurde nicht beobachtet. Die Chromosomen — wahrscheinlich 5 — liegen zerstreut an der Spindel.

Das Promyzel wird durch eine Zellwand in 2 Zellen geteilt und eine Kern- und Zellteilung folgt schnell.

Eine Zelle wird an ihrem oberen Ende hakenförmig ausgestülpt, diese Ausstülpung schwillt an und bildet das Sporidium. Der Kern wandert in das junge Sporidium und teilt sich. Reife Sporidien sind regelmäßig zweikernig. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mix, A. J., Factors affecting the sporulation of Phyllosticta solitaria in artifical culture. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 503—524, 1 fig.)

Phyllosticta solitaria bildete auf verschiedenen Nährböden Pykniden und Sporen. Die Bildung von Sporen war nicht abhängig von der Gegend, aus der der Pilz stammte, nicht von dem Sitz des Pilzes an der Wirtspflanze, nicht von der Jahreszeit, in der die Isolation vorgenommen wurde und wurde auch nicht durch Licht oder Dunkelheit beeinflußt. Feste Nährböden waren für die Sporenbildung günstiger als flüssige. Besonders günstig erwies sich folgender Nährboden: 0,5 g KNO_3, 1,25 g KH_2PO_4, 0,75 g $MgSO_4$, 0,1 g Dextrose, 20 g Agar auf 1000 ccm Wasser. Als Stickstoffquelle war Kaliumnitrat am besten, Eiweiß war das nächstbeste, während Asparagin und Pepton weniger gut waren. Als Kohlenstoffquellen waren Traubenzucker, Fruchtzucker, Mannose und Rohrzucker gleichwertig. Maltose war ungünstig für das Wachstum und die Sporenbildung. Xylose ließ kein Wachstum zu. Fertile Pykniden wurden gebildet, wenn die anfängliche Wasserstoffionen-Konzentration des Nährbodens zwischen ph 4,2 und 5,8 betrug. Das Temperaturminimum für das Wachstum liegt zwischen 8 und 12° C, das Optimum zwischen 26 und 29° C und das Maximum zwischen 33 und 35° C. Die günstige Temperatur für die Sporenbildung ist 22—29° C. Bei Isolationen wurden sporenbildende und nichtsporenbildende Stämme gefunden. Es war nicht möglich, Sporenbildung bei nichtsporenbildenden Stämmen hervorzurufen. Autolyse von Myzel und Sporen kam in alten Kulturen vor. Infektionen mit Sporen aus Kulturen gelangen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Martoatmodjo, B., Beitrag zum Studium des „Ultravirus tuberculeux“. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 216—233.)

Die Versuche sprechen gegen eine filtrierbare Form des Tuberkelbazillus.

Andersartige Ergebnisse können damit erklärt werden, daß auch die Chamberlandkerzen L 3 nicht immer bakteriendicht sind (5 von 15 ließen Kontrollbakterien, Bact. prodigiosum, durch).

Rodenkirchen (Duisburg).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Auhagen, E., Über Co-Carboxylase. Reinigungsversuche und Vorkommen in tierischen Organen. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 330—339.)

Unter geeigneten Bedingungen läßt sich ein mehrere Wochen haltbares Ätiozymasepräparat gewinnen, das die Co-Carboxylasebestimmung wesentlich erleichtert. Die Versuche über die Reinigung der Co-Carboxylase führten zu Präparaten, die 200mal aktiver waren als Hefekochsaft, eine völlige Reindarstellung gelang aber bisher noch nicht. Auch in tierischen Organen wurde Co-Carboxylase nachgewiesen. R. Koch (Berlin).

Müller, D., Das Verhalten getöteter Essigbakterien gegenüber O_2 und Chinon als Wasserstoffakzeptoren. — Untersuchungen über Oxydasen in getöteten Essigbakterien. III. (Biochem. Z. Bd. 254. 1932. S. 102—111.)

Verf. studierte die Dehydrierung von Isopropylalkohol zu Aceton durch Acetondauerpräparate von Bact. Pasteurianum. Es war festzustellen, ob die Alkoholdehydrase der Essigbakterien Sauerstoff direkt als Wasserstoffakzeptor verwenden kann oder ob dazu die Mitwirkung eines besonderen Sauerstoffüberträgers (Atmungsferment) notwendig ist. Die Versuche ergaben, daß bei dieser Reaktion wahrscheinlich der Sauerstoff ohne Sauerstoffüberträger als Akzeptor wirken kann. Bei der vergleichenden Prüfung der Akzeptorwirkung von Sauerstoff und Chinon war das Verhältnis der Aktivitäten konstant. Selbst durch Auswaschen des Azetondauerpräparates mit Wasser und Fällung mit Alkohol-Äther ändert sich das Verhältnis Aceton-O_2 : Aceton-Chinon nicht. In beiden Fällen werden die Aktivitäten in gleichem Maße geschädigt. Die Zerstörungstemperatur der Alkoholdehydrase ist 54,5° C sowohl wenn Sauerstoff, als auch wenn Chinon Akzeptor ist. Nur in ihrem Verhalten gegenüber HCN unterscheiden sich die Akzeptoren Sauerstoff und Chinon. Ersterer wird durch HCN mehr beeinträchtigt als letzterer. R. Koch (Berlin).

Virtanen, A. J. und v. Hausen, J., Über die Vergärung von Glyzerinaldehyd. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 204. 1932. S. 235—246.)

Da Dioxyaceton und Glyzerinaldehyd einander nahestehende Stoffe sind, war anzunehmen, daß sie in gleicher Weise vergoren werden. Früher war festgestellt worden, daß Colibakterien, welche an Dioxyaceton gewöhnt waren, diesen Stoff etwa zweimal schneller vergoren als Glukose. Dabei entstehen ohne vorherige Kondensation zur Hexose Glyzerin, Essig- und Ameisensäure als Reaktionsprodukte. Verff. konnten zeigen, daß B. coli l-Glyzerinaldehyd vergärt, wenn auch dieser Stoff eine deutliche Giftwirkung auf die Bakterien ausübt. Die d-Form blieb unangegriffen. Aus l-Glyzerinaldehyd entstanden die gleichen Gärprodukte wie aus Dioxyaceton. Die Gärgase bestanden aus CO_2 und H_2. R. Koch (Berlin).

Simon, E., Aldehyd-Dismutation und Essiggärung. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 401—405.)

Verf. bestätigt erneut seine früheren Befunde. Bact. pasteurianum dismutiert Acetaldehyd unter aeroben Bedingungen zu Alkohol und Essigsäure. R. Koch (Berlin).

Hofmann, E., Über den Abbau von Glucoseureid durch Bakterien. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 416—422.)

Glukoseureid kommt anscheinend nicht in lebenden Organismen vor, vielmehr sind Zucker-Harnstoffverbindungen nur auf synthetischem Wege zugänglich. Da eine größere Reihe von Bakterien, Schimmelpilzen und Hefen nicht imstande war, Glukoseureid abzubauen, versuchte Verf. durch Impfung mineralsalzhaltiger Lösungen dieses Stoffes mit Erde aus dem Geflügelhof oder vom Komposthaufen zum Ziele zu gelangen. Es gelang ein gramnegatives, schlankes, unbewegliches Bakterium zu isolieren, welches zum Abbau des Glukoseureids befähigt war. Diese Fähigkeit wurde aber bei Züchtung auf ureidlosen Nährböden geringer. Das mit keiner der bekannten Arten identische Bakterium gehört zu den Harnstoffzersetzern. R. Koch (Berlin).

Fromageot, C. und Roux, J., Über den Mechanismus des ersten Angriffes der Hexosen durch Milchsäurebakterien. I. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 175—190.)

Es wird angenommen, daß die vergärbaren Hexosen eine Molekülumlagerung erleiden, bevor sie vergoren werden. Man bezeichnet die vergärbaren Strukturformen als alloiomorphe oder kurz am — Zucker. Der Mechanismus dieser Zuckerumwandlung ist noch ungeklärt. Zum Studium dieses Vorganges ist die durch lebende Milchsäurebakterien bewirkte Milchsäuregärung geeigneter als die schwer übersehbare alkoholische Gärung mittels abgetöteter Hefe. Der Mechanismus des ersten Angriffes der Hexosen scheint bei diesen beiden Gärungsarten gleich zu sein. Verff. verwendeten einen Stamm Bac. bulgaricus, welcher bei 45° C die Milch in 14 Stunden koagulierte und eine nahezu 100 proz. Ausbeute an Milchsäure liefert. Die auf kreidehaltiger Bouillon vorgezüchteten Bakterien wurden mit einer schwach alkalischen bikarbonathaltigen Ringerlösung gewaschen, dann in der gleichen Lösung suspendiert und mit reinen Zuckerlösungen vermischt, die entstehende Milchsäure setzte eine äquivalente Menge CO_2 in Freiheit, die manometrisch gemessen wurde. Die untersuchten Zucker ergaben nach ihrer Vergärungsgeschwindigkeit geordnet die Reihe: Fruktose > Mannose > Glukose > Galaktose. Nach anfänglichen Induktionsperioden folgte eine Zeit rascher, später abflauender Gärung. Dabei ist die insgesamt entwickelte CO_2-Menge je nach der Zuckerart verschieden. Die Form der Gärungskurven war deutlich abhängig vom physiologischen Zustand der Bakterien. Ermüdete Bakterien ließen sich durch Phosphat aktivieren, was sich in einer Verkürzung der Induktionsperiode äußerte. Auch auf den weiteren Verlauf der Gärung war das Phosphat von Einfluß. R. Koch (Berlin).

Lieben, F. und Löwe, L., Über den Abbau von Glukose, Fruktose und Glukosamin durch Bakterien. (Biochem. Z. Bd. 252. 1932. S. 70—73.)

Vergleicht man den Abbau von Glukose und Fruktose durch Bact. coli, Bac. proteus und Bact. prodigiosum nebeneinander

in getrennten Lösungen, so verläuft der Fruktoseabbau immer deutlich rascher. Mischt man die beiden Zucker, so greift Bact. prodigiosum Glukose schneller an, während Bac. proteus die beiden Zucker gleich schnell abbaut. Glukosamin wird durch Bact. prodigiosum ebenso schnell angegriffen wie Glukose. R. Koch (Berlin).

Neuberg, C. und **Kobel, M.**, Über den Mechanismus des Abbaus von Zucker durch das Termobakterium mobile Lindner. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 451—460.)

Termobact. mobile (Lindner) wurde in mexikanischem Agavensaft gefunden. Es ist das stärkste bisher bekannte Gärungsbakterium. Bei der Gärung werden äquimolekulare Mengen Alkohol und CO_2 und daneben etwa 6,5% Milchsäure gebildet. In der gleichen Weise wie bei der alkoholischen Hefegärung vergoren sowohl frische als auch durch Alkohol-Äther getrocknete Termobakterien Brenztraubensäure zu Acetaldehyd und CO_2. Bei der Glukosevergärung durch lebende Bakterien konnte Acetaldehyd durch Kalziumsulfit abgefangen werden (24% der Theorie). Auch die Zuckerphosphorylierung sowie die Dephosphorylierung von Hexosediphosphat und Glukose-6-monophosphorsäure-ester waren bei Anwendung getrockneter oder frischer Bakterien nachzuweisen. Das Alkohol-Äther-Trockenpräparat war anscheinend frei von Co-Zymase. Normale alkoholische Zuckerspaltung trat erst nach Hinzufügung von Hefe-Co-Zymase ein.

R. Koch (Berlin).

Simon, E., Überführung von Milchsäure in Brenztraubensäure mittels Bacterium Delbrücki. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 488—493.)

Die durch echte Milchsäurebakterien bewirkte Glykolyse führt unter Aufspaltung des Zuckers zu zwei Molekülen Methylglyoxal und anschließender Dismutation direkt zu Milchsäure. Die von S. Kostytschew und S. Soldadenkow behauptete Entstehung von Brenztraubensäure als Zwischenprodukt der normalen Milchsäuregärung steht im Gegensatz zu allen bisherigen Erfahrungen. Vielmehr gelingt es, die Umwandlung von Laktat in Pyruvinat nachzuweisen. Die Brenztraubensäure wäre also nicht aus dem Zucker, sondern mittels Dehydrierung aus der Milchsäure entstanden.

R. Koch (Berlin).

Kotake, Y., Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. XII. Mitteilung:

Kotake, Y. und **Otani, S.**, Über den Mechanismus der Anthranilsäurebildung aus Tryptophan durch Mikroorganismen. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 214. 1933. S. 1—6.)

Bac. subtilis verwandelt nach Sasaki Tryptophan in Antranilsäure. Verff. vermuteten, daß dieser bakterielle Abbau auf ähnliche Weise verläuft wie die Umwandlung des Tryptophans im Tierkörper. Dies konnte insofern bestätigt werden, als in beiden Fällen Kynurenin als Zwischenprodukt nachweisbar war. Dieser Stoff würde durch Bac. subtilis ebenso wie Tryptophan zu Anthranilsäure abgebaut.

R. Koch (Berlin).

Kotake, Y., Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. XV. Mitteilung:

Saito, J., Über den Einfluß des Tryptophans und seiner physiologischen Stoffwechselprodukte auf die

Entwicklung der Hefe. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 214. 1933. S. 17—21.)

Eine „gewöhnliche Art" Hefe wurde in Hayduckscher Nährlösung mit kleinen Mengen Tryptophan, Kynurensäure, Kynurin oder Kynurenin zusammengebracht. Von diesen Stoffen wirkte nur der letzte wachstumsfördernd auf die Hefe. R. Koch (Berlin).

Kotake, Y., Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. XVII. Mitteilung: 3.
Saito, J., Über den Einfluß der Konfiguration bei Indolbildung aus Indolmilchsäure durch Bakterien. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 214. 1933. S. 28—30.)

Während d, l-Indolmilchsäure in Gegenwart einer geeigneten Stickstoffquelle durch Bact. coli unter Indolbildung gespalten wird, ist dies bei der l-Indolmilchsäure nicht der Fall. Dieses Verhalten entspricht dem Wert dieser Stoffe bei der Ernährung der Ratten. Der razemische Stoff vermochte das Tryptophan bei der Rattenernährung zu ersetzen, die l-Form war dabei wertlos. R. Koch (Berlin).

Kotake, Y., Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. XVII. Mitteilung: 4.
Otani, S., Abfangung des Acetaldehyds mittels Aminosäuren bei der Hefegärung. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 214. 1933. S. 30—32.)

Willia anomala bildete beim Wachstum in mineralsalzhaltiger Rohrzuckerlösung aus zugesetztem Tryptophan ein Derivat, das sich als Produkt einer Reaktion zwischen Tryptophan einerseits und Acetaldehyd anderseits erwies. Unter Wasseraustritt bildete sich zwischen der Aminogruppe der Tryptophanseitenkette und dem Aldehyd die Gruppierung: $-N = CH \cdot CH_3$. Es gelingt also, den Gärungsacetaldehyd durch Aminosäuren abzufangen. R. Koch (Berlin).

Keil, W., Das Verhalten von l-Histidin bei der Hefegärung. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 207. 1932. S. 275—276.)

Manche Aminosäuren werden bei der Hefegärung unter Abspaltung von Ammoniak und Kohlensäure in einen um ein Kohlenstoffatom ärmeren Alkohol umgewandelt. Für das l-Histidin scheint das nicht zuzutreffen. Obwohl dieser Stoff bei der Gärung verschwand, konnte Verf. weder den erwarteten Imidazoläthylalkohol noch irgendeine andere Substanz, die den Imidazolkern noch enthält, im Gärsubstrat auffinden.
R. Koch (Berlin).

Ackermann, D., Über den biologischen Abbau des Arginins zu Citrullin. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 203. 1931. S. 66—69.)

Mit Hilfe einer Mischkultur von Fäulniserregern (faulendes Pankreasgewebe) wurde Arginin unter NH_3-Abspaltung zu Citrullin abgebaut.
R. Koch (Berlin).

Horn, F., Über den Abbau des Arginins zu Citrullin durch Bacillus pyocyaneus. (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 216. 1933. S. 244—247.)

Die mikrobiologische Umwandlung von Arginin in Citrullin ist bisher nur in Mischkulturen von Fäulnisbakterien beobachtet worden. Ob auch

tierische oder pflanzliche Gewebe diese unter NH_3-Abspaltung verlaufende Reaktion bewirken können, war nicht mit Sicherheit nachweisbar, weil die meistens gleichzeitig anwesende Urease NH_3 aus Harnstoff liefern kann und weil eine Isolierung des Citrullins in diesen Fällen sehr schwierig und verlustreich ist. Aus Bakterienkulturen ist Citrullin leichter rein zu gewinnen. Bac. pyocyaneus vermochte Arginin teilweise in Citrullin umzuwandeln (Ausbeute 4,9%). Bac. coli lieferte kein Citrullin.

R. Koch (Berlin).

Veibel, St., Über die Vorgänge bei der Phosphorylierung von Zucker durch Hefe, insbesondere über die Veränderungen während der Periode der totalen Phosphorylierung. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 350—373.)

Zwecks Aufklärung der außerordentlich verwickelten Vorgänge bei der biochemischen Zuckerphosphatbildung wurde die Phosphorylierung der Glukose in Gegenwart frischer untergäriger Hefe unter Zusatz von Toluol eingehend studiert. Zu Beginn der Gärung wurde mehr Monophosphat als Diphosphat im Gärsubstrat gefunden. Nach 2 Stunden waren jedoch schon gleiche Mengen dieser beiden Stoffe vorhanden und nach 4 Stunden hatte sich das Verhältnis zugunsten des Diphosphats verschoben. Im Verlauf weiterer 10 Stunden veränderte sich das Phosphatverhältnis wieder im umgekehrten Sinne. Nach 8 Stunden begann die Dephosphorylierung und nach 32 Stunden waren 50% des veresterten Phosphats wieder mineralisiert. Nach 4, sowie nach 8 und 32 Stunden wurden die Monophosphate als Bariumsalze aus dem Substrat isoliert. Sie zeigten voneinander abweichende Drehwerte. Wie auch aus den Bariumbestimmungen hervorgeht, lag ein Gemisch von Trehaloseester, Robison-Ester und Neuberg-Ester vor. Verf. diskutiert unter Berücksichtigung der verschiedenen bisher vorliegenden Anschauungen die Bedeutung der einzelnen Phosphorsäureester für den Zuckerabbau.

R. Koch (Berlin).

Jacobsohn, K. P., Über die Einwirkung der Hefe auf die Fumarsäure. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 449—455.)

Durch Hefe werden Fumar- oder Äpfelsäure nicht dekarboxyliert, was sich aus dem Ausbleiben der Milchsäurebildung ergibt. Die Entstehung der bei der Fumarsäurevergärung durch Hefe zu beobachtenden Kohlensäure ist so zu erklären, daß die Carboxylase an den durch Hefe bewirkten Oxydoreduktionsprozessen teilnimmt. R. Koch (Berlin).

Friedmann, E., Acetessigsäure und Hefe. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 125—144.)

Ein Vergleich des Umsatzes von Acetessigsäure durch gärende Hefe mit demjenigen bei Abwesenheit von Zucker hatte ergeben, daß der Umsatz durch gärende Hefe um ein Mehrfaches höher ist. Über die Reaktionsprodukte dieser Umsetzungen war bisher nur wenig bekannt. Verf. isolierte als Hauptprodukt des Umsatzes von Acetessigsäure durch gärende Bäckerhefe die rechtsdrehende β-Oxybuttersäure, daneben fanden sich d-, l-Milchsäure und die der d-Reihe angehörende linksdrehende Milchsäure. Die gleichen Produkte lieferte der Umsatz der Acetessigsäure bei Abwesenheit von Zucker. Während im ersteren Falle 38% der zugesetzten Acetessigsäure in β-Oxybuttersäure verwandelt wurden, waren es im zweiten Falle 13—17%.

R. Koch (Berlin).

Friedmann, E., Reaktionsbedingungen des Acetessigsäureumsatzes durch Hefe. (Biochem. Z. Bd. 244. 1932. S. 42—56.)

Die Umwandlung von Acetessigsäure in d-(+)-β-Oxybuttersäure durch gärende oder nicht gärende Bäckerhefe wurde quantitativ verfolgt. Dabei waren besonders der Einfluß der Azidität sowie die Konzentration des Zuckers, der Acetessigsäure und der Hefe von Bedeutung. Sowohl in Gegenwart von Zucker als auch ohne Zucker wuchs der Umsatz der Acetessigsäure mit wachsender H-Ionenkonzentration und unter sonst gleichen Bedingungen mit zunehmender Hefemenge. Bei einer Hefemenge, die im Verhältnis 4 : 10 dem Ansatz zugefügt wurde, war der intensivste Umsatz zu erzielen. Auch eine Zunahme der Zuckerkonzentration bewirkte eine Steigerung des Acetessigsäureumsatzes. R. Koch (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Ruyle, E. H., The microbiology of canned meat products. (Dissertation. Urbana, Illinois. 1933.)

Büchsenfleisch wurde auf seinen Gehalt an Bakterien untersucht. Das Verderben solcher Dauerware beruht nach Ansicht Verf.s nicht in erster Linie auf Verwendung schadhafter Büchsen, sondern auf unsauberer Behandlung und Verpackung des Fleisches, wodurch hitzeresistente und gefährliche Sporenbildner in die Büchsen gelangen können.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Sherman, James M., and Wing, Helen U., The significance of colon bacteria in milk, with special reference to standards. (Journ. of Dairy Science. Bd. XVI. 1933. S. 165—173.)

Die verschiedenen Anregungen, den Colititer als Maßstab hygienischer Milchbeurteilung einzuführen, veranlaßte die Verff., 450 Milchproben aus dem Zentrum des Staates New York auf allgemeinen Keimgehalt und Coli-Keimzahl zu prüfen. Die Coli-Zahl wurde auf Endo-Agar bestimmt. Die Untersuchungen zeigten, daß der Coli-Titer nicht ohne weiteres als Wertmesser für die hygienische Milchgewinnung dienen kann. Die Art der Milch ist von entscheidendem Einfluß. So muß z. B. die gewöhnliche Marktmilch beiseite gelassen werden; denn die nach der Milchgewinnung herrschenden Bedingungen sind bei solcher Milch für die endgültige Coli-Zahl viel maßgebender als die während des Melkens herrschenden (dies gilt besonders hinsichtlich Temperatur). Somit eignet sich der Coli-Titer als Index für hygienische Milchgewinnung nur bei Qualitätsmilchen; denn diese werden so behandelt, daß eine Bakterienvermehrung nach dem Melken ausgeschlossen ist. Bei Milchen mit einer Gesamt-Keimzahl von nicht mehr als 10 000 pro Kubikzentimeter kann eine Colizahl von weniger als 100 pro Kubikzentimeter als tragbar angesehen werden, bei Kindermilch eine solche von nicht mehr als 10 Keimen pro Kubikzentimeter.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Michaelian, M. B., and Hammer, B. W., The source of the volatile acidity produced in milk by the citric acid fermenting streptococci. (Journ. of Dairy Science. Bd. XVI. 1933. S. 157—164.)

Die vorliegende Untersuchung hatte sich zur Aufgabe gesetzt, der Möglichkeit der Bildung von flüchtiger Säure aus Milchsäure genauer nachzugehen. Als Ergebnis zeigte sich folgendes: Milch-

säure erhöhte zwar die Menge der von den Zitronensäurevergärern in Milch gebildeten flüchtigen Säuren, dies war aber keine der Milchsäure spezifisch anhaftende Eigenschaft; denn derselbe Erfolg stellte sich auch mit Weinsäure, Brenztraubensäure und Phosphorsäure ein. Die Wirkung dieser Säuren mag vielleicht allgemein darin bestehen, daß durch sie eine Wasserstoffionen-Konzentration gebildet wird, die diese Organismen besonders dazu anregt, flüchtige Säuren zu bilden, und daß vielleicht auch Freisetzen der Zitronensäure aus ihren Salzen eine Rolle dabei spielt. Die Eigenschaft dieser Säuren, die biologische Bildung flüchtiger Säuren zu fördern, war am ausgeprägtesten bei Verwendung solcher Stämme, die an und für sich wenig titrierbare Säure bildeten, und am schwächsten bei denen, die verhältnismäßig hohe Beträge titrierbarer Säure bildeten. Zugefügte Zitronensäure hatte eine derartig starke Bildung von flüchtigen Säuren zur Folge, daß sie ohne Zweifel als eine der Hauptquellen von flüchtigen Säuren zu betrachten ist. Das ergab sich auch aus Versuchen mit Zufügung von Zitronensäure zu modifizierter Fleischbouillon oder zu Milch, aus der die Zitronensäure weggegoren und die flüchtigen Säuren abdestilliert worden waren. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Happe, H. und Neumark, E., Über die Verbreitung der Bang-Infektion bei Mensch und Rind in Berlin. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 342—352.)

Den günstigsten Stand bezüglich der Banginfektion zeigte die in Berlin erzeugte Milch der Abmelkwirtschaften mit 12,84% banginfizierten Beständen und mit insgesamt 0,96% infizierten Kühen. Alle andere Milch stammte aus Beständen, die sich zu 100% als infiziert erwiesen und deren Kühe zu 19,4% positiv reagierten. Diese Ergebnisse erklären sich daraus, daß bei den Abmelkwirtschaften nur hochtragende oder frischmelkende Kühe eingestellt werden. Es handelt sich also um Kühe, die — freilich nur bis zu einem gewissen Grade — Abortusfreiheit zeigen, insofern als das Hauptsymptom, eben der Abortus, fehlt. Infolge Pasteurisierungszwang für alle nicht aus den Berliner Abmelkwirtschaften stammende Milch und infolge der geringen Disposition des Menschen für eine Banginfektion per os ist die Banginfektion unter der Berliner Bevölkerung nur in ganz geringem Maße verbreitet (in 3 Jahren 43 Erkrankungen, von denen 26 als „reine Milchinfektionen" geklärt werden konnten). Rodenkirchen (Duisburg.)

Stockmayer, W., Die Feststellung von Bangbazillen in Einzel- und Gruppenmilchproben mit Hilfe von Elektivnährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 205—216.)

Verf. hat unter Verwendung eines Nährbodens, der Leberagar mit einem Zusatz von Malachitgrün und Gentianaviolett in einer Verdünnung von 1 : 250 000 enthält, eine praktisch wichtige Methode zum kulturellen Nachweis von Bangbazillen in Einzelmilchproben ausgearbeitet (Gruppenmilchproben sind ungeeignet). Die Farbstoffzusätze üben eine weitgehende Hemmung aus auf die beim Melken von außen in die Milchproben gelangenden wie auch auf die von latenten oder akut-entzündlichen Euterinfektionen stammenden Bakterien. Die Züchtung hat in CO_2-Atmosphäre oder in Symbiose mit einem Colistamm zu erfolgen. Bebrütungsdauer 4 Tage. Verarbeitung der Milch möglichst auf 2 Platten: einmal zentrifugiert und einmal nicht zentrifugiert. Rodenkirchen (Duisburg).

Demeter, K. J., Sauer, Fr. und Miller, M., Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Methoden zur Coli-aerogenes-Titerbestimmung in Milch. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 264—280, 6 Tab.)

Eine größere Anzahl von Milchproben wurde vergleichend nach 10 verschiedenen Methoden auf Coli-aerogenes-Gehalt quantitativ untersucht (Plattenmethode [Ausstrich und Guß] und Gasbildungsnachweis in verschiedenen Abwandlungen sowie Indolnachweis). Die Resultate wurden nach der Methode des „gewogenen Mittels" (weighted mean method von Bigger und Griffiths) sowie an Hand der Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten analysiert. Die niedrigsten absoluten Durchschnittswerte wurden mit dem Gasbildungsnachweis in Kristallviolettbouillon und dem Indolnachweis in Trypsinbouillon erhalten, auch die übrigen Gasbildungsnachweismethoden gaben verhältnismäßig niedrige Werte im Vergleich zu jenen, die mit der Plattenmethode insbesondere bei Verwendung des Fuchsinagars nach Endo erzielt wurden. Mit dem Gußverfahren wurde durchschnittlich keine so hohe Keimzahl erhalten wie mit dem Ausstrichverfahren auf der Agaroberfläche (starke mechanische Keimaggregatzerteilung). Bezüglich der Rangkorrelation schneidet am besten die Gußmethode mit Klimmers Bromthymolblau-Trypaflavin-Lactose-Agar ab, weshalb diese Methode für die offizielle Coli-aerogenes-Titerbestimmung empfohlen wird, falls man vom Gasbildungsnachweis (in Bouillon) völlig absehen will. H. Mossel (Weihenstephan).

Roemmele, O. und Stocker, W., Untersuchungen über die Ursachen des Schmirgelns von momenterhitzter Flaschenmilch. (Ztschr. f. Fl.- u. Milchhyg. 1932. Jahrg. 42. S. 440.)

Flaschenmilch, die mit dem Tödt-Momenterhitzer pasteurisiert, mit Drehkolbenpumpen befördert, auf 3—5° C gekühlt und 20—24 Std. im Kühlraum aufbewahrt worden war, zeigte zu Beginn der kühleren Jahreszeit den Fehler des Schmirgelns. Verff. glauben, als Ursache für diesen Fehler die blanken Metallteile des Tödt und der Drehkolbenpumpe verantwortlich machen zu können, da die Kühe nur solches Futter bekamen, das mit Metallen, insbesondere Kupfer, nicht in Berührung gekommen war. Wurde wie oben behandelte Milch in einem warmen Raum aufbewahrt, dann trat der Fehler nicht auf. Dies alles deckt sich mit den Feststellungen Kendes. Die mit dem von ihm empfohlenen Reducto-Bacterium frigidum neutrale versetzten Milchproben waren jedoch ebenfalls schmirgelig geworden. Verff. kamen schließlich einfacher zum Ziel, indem sie die pasteurisierte Milch nicht mehr so stark abkühlten und sie sofort an die Verbraucher abgaben. Auf diese Weise konnten die in der Milch schon vorhandenen, reduzierend wirkenden Eigenschaften dem latenten Fehler entgegenwirken. H. Mossel (Weihenstephan).

Pick, M., Beiträge zur Kenntnis der typischen Bakterienflora im Kefir (Bac. caucasi [nova spezies]). (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 115—153, 12 Textabb.)

Die untersuchten Kefirkörner enthielten als typische Flora zwei Torulahefen (davon eine Milchzucker vergärend), Streptococcus lactis, dünne, nesterbildende Stäbchen vom Typ Betabacterium caucasicum O. J. und dicke, mit Hefen knäuelnde,

glykogenführende Bazillen (Hennebergs „Kefirbacillus"). Die Reinkultivierung des Bacillus gelang nur in Lebermilch- und Leberbouillon-Agar mit 4,5% Lactose. Dagegen machte die Isolierung der anderen Keime keine Schwierigkeiten. Orla Jensens Anschauung, daß dem Betabact. caucasicum die Aufgabe zukomme, das Gewebe der Körner und Säure zu bilden, konnte nicht bestätigt werden. Der glykogenführende Bacillus konnte zwar nicht zur Sporenbildung gebracht werden, jedoch lassen zahlreiche Literaturangaben die Annahme eines ehemaligen Sporenbildners gerechtfertigt erscheinen. Er zeigte starke symbiontische Gebundenheit an Hefe, durch die allein er befähigt ist, bei der niedrigen Temperatur des Kefirs zu wachsen und Milchsäure zu bilden. Von praktischer Bedeutung für die Kefirreifung wurden allein die Hefen und Streptokokken gefunden. Die Hauptfunktion des Bacillus besteht in der Stromabildung. Außerdem besitzt er noch ein geringes Eiweißabbauvermögen. Dem Betabacterium fällt die Aufgabe zu, die einzelnen Symbionten inniger zu verkitten und einen Einfluß auf die Aromabildung auszuüben. Mit Reinkulturen der typischen Organismen gelang die Herstellung eines normalen Kefirs. Versuche, die natürliche Knöllchenbildung künstlich hervorzurufen, waren ergebnislos. H. Mossel (Weihenstephan).

Meyer, L., Desinfektion von Melkmaschinen. (Österr. Milchwirtschaftl. Ztg. Jahrg. 40. 1933. S. 193.)

In Vorversuchen wurden neue Gummischläuche durch Einfüllen von Desinfektionsmitteln und viertelstündiges Bewegen und Kneten auf ihr Verhalten geprüft. Es wurden folgende Desinfektionsmittel angewendet: Formulsin (1- und 2proz.), Alfa Formulsin (2proz.), Lactoform (0,04- und 0,1proz.), Lauge (0,55proz.), M_4 (0,5- und 1proz.), Soda (2proz.), Schmierseife (2proz.) und Trosilin (0,25proz.). Bei 4 Wochen langem Einlegen in 46° C warme Lösungen wurde festgestellt, daß nur die stark alkalischen Mittel, wie Sóda, Lauge und M_4 Gewichtsverluste des Gummis verursachten. Auch gewöhnliches Leitungswasser hatte den Gummi stark angegriffen. Die besonders elastischen Gummisorten überstanden die Prüfung am besten.

Dann wurden praktische Versuche mit einer Alfa-Melkmaschine vorgenommen. Während gleichlanger Zeiträume wurde abwechselnd mit desinfizierten und mit nichtdesinfizierten Melkgarnituren gemolken. Im ersten Falle war die Keimzahl der Milch bei 1800—4500 pro Kubikzentimeter (festgestellt auf Lactose-Fleischextrakt-Pepton-Agar, 3tägige Bebrütung bei 30° C), während die mit nichtdesinfizierter Maschine ermolkene Milch eine Keimzahl von 11—40 000 pro Kubikzentimeter aufwies, d. i. eine Keimerhöhung um 80%. Die Reinigung und Desinfektion wurde so vorgenommen, daß nach dem Melken mit heißem. und kaltem Wasser mit nachfolgender Bürstung der Schläuche gearbeitet wurde, dann wurden die Schläuche samt den Melkbechern 3—4 Std. mit 0,3proz. Trosilinlösung behandelt. Die Garnitur wurde wöchentlich einmal zerlegt, ebenso fand die Erneuerung des Desinfektionsmittels einmal wöchentlich statt.

H. Mossel (Weihenstephan).

Henneberg, W., Futtereinfluß auf die Haltbarkeit der Milch. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 156.)

Die Fütterung des Milchviehes ist von Einfluß auf die Zusammensetzung der Milch. Damit ist das Auftreten mancher Milchfehler zu erklären. So war nach reichlicher Rübenfütterung ohne Kalkzugabe die Milch bei kühler

Temperatur für das Aufkommen von Nichtsäurebildnern deutlich disponiert. Kalkfütterung brachte den Milchfehler zum Verschwinden.

R. Koch (Berlin).

Hucker, G. J., and Lee, Dorothy A., Mastitis II. The use of certain dyes in the treatment of mastitis. (N. Y. Stat. Agric. Exp. Stat. Techn. Bull. No. 205. 1932. p. 1—35.)

Die Versuche wurden mit folgenden Farbstoffen ausgeführt: Kristallviolett, Brillantgrün, Acriflavin und Azamin. Letztgenannter Pyridinfarbstoff wurde gewählt, weil er weniger toxisch ist und erfahrungsgemäß mit gutem Erfolge bei der Heilung von Infektions-Krankheiten der Harnwege angewendet wird. Die Behandlung der Mastitis (akute und chronische Fälle) wurde auf dreierlei Weise versucht: Orale Administration, intravenöse Injektion und direkte Einspritzung der Farbstofflösungen durch die Zitzenöffnungen. Im letzten Fall erwies es sich als am zweckmäßigsten, wenn als Lösungsmittel für den Farbstoff eine isotonische Lösung von 0,12% NaCl und 3,5% Laktose verwendet wurde. Physiologische Kochsalzlösung oder gar destilliertes Wasser verursachten, auf dem Zitzenwege dem Euter einverleibt, Reizungen des Eutergewebes. Kristallviolett, Brillantgrün und Acriflavin übten keine heilende Einwirkung auf Mastitis aus, das Acriflavin hatte im Vergleich zu den übrigen Farbstoffen jedoch den geringeren toxischen Einfluß auf die Eutergewebe. Was das Pyridinderivat Azamin betrifft, so zeigte sich bei oraler Administration und intravenöser Injektion nur wenig Wirkung, Euterauswaschungen durch die Zitzenöffnungen zeitigten jedoch Ergebnisse, die sehr hoffnungsvoll sind. Nach der Behandlung mit 0,5 proz. Azamin-Lösung trat eine Verminderung des Gesamtkeimgehalts der aseptisch gewonnenen Milch und eine Abtötung praktisch sämtlicher Mastitis-Streptokokken ein. Von 92 akut oder chronisch an Mastitis erkrankten Eutervierteln konnten durch diese Behandlung 68 geheilt werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Cherrington, N. A., Hansen, H. C., and Halversen, W. V., The leucocyte content of milk as correlated with bacterial count and hydrogen ion concentration for the detection of mastitis. (Journ. of Dairy Science. Vol. XVI. 1933. p. 59—67.)

Es interessierte in der Hauptsache, ob es möglich ist, lediglich auf Grund der Leukozytenzahl in Milch auf das Bestehen von Euterentzündung zu schließen. Als „normal" in bezug auf Leukozytengehalt wurden solche Kühe betrachtet, von denen keinerlei Eutererkrankung bekannt war und deren Milch auch einen niedrigen allgemeinen Keimgehalt aufwies. Das Ergebnis war folgendes:

1. Von allen Methoden erwies sich die Bestimmung des Leukozytengehaltes als sicherstes Hilfsmittel zur Mastitis-Diagnose. Der Leukozytengehalt hat den weiteren Vorteil, daß er nach dem Melken keinen Veränderungen mehr unterworfen ist.

2. Bakterienzählungen auf Blutagar sind verlässiger als auf Fleischextrakt-Peptonagar wegen der besseren Differenzierungsmöglichkeit der verdächtigen Keime.

3. Die p_H-Bestimmungen mit der Chinhydron-Elektrode und der Bromkresolpurpur-Methode stimmen zwar mit den üblichen Laboratoriumsmethoden zur Mastitis-Diagnose überein, die Resultate sind aber nur in extremen Fällen zuverlässig.

Das Ergebnis von 758 Leukozytenzählungen der Milch „normaler" und mastitiskranker Kühe pro ccm war derart, daß man folgendes schließen durfte: normale Euter sezernieren nur Milch mit nicht mehr als 50 000 Leukozyten pro ccm, mastitiskranke Euter jedoch mehr als 100 000 pro ccm.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Jones, F. S., and Little, R. B., Acid milk in bovine mastitis. (Journ. of Dairy Science. Vol. XVI. 1933. p. 111—119.)

Bei 9 Fällen aus einer Reihe von rund 450 Mastitiserkrankungen wurde in frisch gemolkener Milch anstatt neutraler oder alkalischer Reaktion saure Reaktion beobachtet (p_H 4,5—5,6). Die Höhe der Azidität stand einigermaßen in Zusammenhang mit der Stärke der Bakterieninfektion. Die an Leukozyten sehr reiche Milch enthielt große Mengen nicht hämolytischer Mastitisstreptokokken, die in der Lage waren, innerhalb von 8 Std. Milch zum Gerinnen zu bringen, wenn diese schlecht gepuffert war. In normaler Milch konnte jedoch diese rasche Säuerung wegen der guten Pufferung und der natürlichen bakteriziden Kraft der Milch nicht erzielt werden. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Sinai, G. J., Symptomlose Milzbrandinfektion beim Menschen. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 79. 1933. S. 199—204.)

Die Milzbrandinfektion kann beim Menschen ohne jegliche sichtbare Symptome verlaufen. Es scheint sogar, daß die klinisch ausgeprägte Form der Milzbrandinfektion durch Genuß der mit Milzbrand infizierten Speisen bedeutend seltener vorkommt als die symptomlose Form.

Rodenkirchen (Duisburg).

Groß, M., In der Butter vorkommende Sproßpilze und deren Einwirkung auf die Butter. (Mitt. d. Milchwirtschaftl. Kabinetts d. Univ. Dorpat in Estland. Nr. 3. S. 1—79. 1933.)

Die Schleswig-Holsteiner Butterproben enthielten im Mittel 1,755 Millionen Sproßpilzkeime pro g, die estnischen, zu verschiedenen Zeiten entnommen und verschiedenenorts untersucht, im Mittel 888 000 bzw. 283 932 Hefekeime pro g. In allen Fällen hing die Höhe der Hefekeimzahl in hohem Grade von der Temperatur der Außenluft ab. Während der Wintermonate fanden sich in der Butter bedeutend weniger davon als während der Sommermonate. Mit der Aufbewahrung trat eine kleine Erhöhung des Durchschnittskeimgehalts ein. Es ließ sich eine gewisse Beziehung zwischen der Qualität der frischen Butter und dem Gehalt an Sproßpilzen feststellen, allerdings in deutlichem Ausmaße erst bei höherem Hefengehalt (Grenze ungefähr 1 Million pro g). Ebenso konnte eine Beziehung konstatiert werden zwischen der Haltbarkeit der Butter und der Hefekeimzahl. Ein besonderes Augenmerk richtete Verf. auf die Beziehungen zwischen dem Sproßpilzgehalt und den Butterfehlern. Sog. Altgeschmack, der Charakter „unrein" und „unrein-sauer" fand sich sowohl bei niedrigem wie hohem Hefekeimgehalt; „unrein" im Geschmack waren aber gerne Proben mit mehr als 1 Mill. pro g. So stark infizierte Proben wiesen des weiteren mit Vorliebe den Fehler „gärig" oder „gärig-sauer" auf. Dieser Fehler fand sich niemals bei hefearmen Butterproben. — Im weiteren gibt Verf. eine systematische Übersicht über die aus 44 Proben isolierten 283 Sproßpilzstämme. Es wurden neben den morphologischen

folgende physiologische Eigenschaften geprüft: Zuckergärvermögen, Veränderung des Säuregrads und Aussehens der Milch, Einfluß des Kochsalzgehalts des Nähragars und der Butter auf das Wachstum der Sproßpilze, p_H- und Temperatureinfluß, Verhalten in aus sterilisiertem Süß- und Sauerrahm hergestellter Butter. Es stellte sich heraus, daß die isolierten Pilze in Anlehnung an Jankes Systematik zu folgenden Gattungen gehörten: I. Mycotorula Will, II. Torulopsis (Berlese) Janke, III. Pseudomonilia Geiger, IV. Saccharomyces Meyen, V. Sporobolomyces Kluyver und van Niel, VI. Oospora Wallr.

Ein Teil der Sproßpilze erwies sich als deutlich schädlich für die Butter, ein Teil als zweifelhaft und ein Teil als neutral, verbessert hat die Butter keiner.

Jedenfalls kamen in jeder der in der Butter gefundenen Sproßpilzgattungen Butterschädlinge vor. Die Schädigung der Butter durch die Sproßpilze erfolgte entweder durch Zersetzung des Butterfettes oder Vergärung des Milchzuckers. Es zeigte sich aber keine engere Beziehung zwischen der Milchfettzersetzung in der Vollmilch-Federstrichkultur und der Veränderung im Geschmack und Geruch der Butter. Manche Pilzstämme schädigen mehr die Süßrahmbutter, andere mehr die Sauerrahmbutter. Bei Versuchen über die Wachstumsgeschwindigkeit der Sproßpilze zeigte sich kein Unterschied in Sauer- und Süßrahmbutter. Alles in allem sind die Sproßpilze in ihrer Gesamtheit in Butter vielfach als schädlich, zum mindesten aber als unerwünscht zu betrachten. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Parfitt, E. H., The influence of media upon the yeast and mold count of butter. (Journ. of Dairy Science. Vol. XVI. 1933. p. 141—147.)

Die verschiedenen Angaben die über die Herstellung des Agars für Pilz- und Hefekeimzahlbestimmung bestehen, wurden einer vergleichenden Nachprüfung in 2 Gruppen unterzogen: Gruppe I: Molkenagar, hergestellt durch Labfällung, Rindfleischbouillon-Agar mit 1% Laktose, Standardnähragar, mit 5% Glukose, Würzeagar (dehydriert, Difco), Malzagar (dehydriert, Difco), Standardnähragar mit 1% Laktose. Gruppe II: Molkenagar, hergestellt durch Labfällung, Molkenagar, hergestellt durch Säurefällung, Molkenagar (dehydriert, Difco) Fabr. I und II, Standardnähragar mit 5% Glukose, Würzeagar (dehydriert, Difco) und Malzagar (dehydriert, Difco). Die Nährböden waren alle mit Milchsäure eingestellt auf eine Wasserstoffionenkonzentration von p_H 3,5 $\pm$ 0,1. Die höchsten und voneinander am wenigsten unterschiedlichen Werte wurden mit den Präparaten der Digestive Ferments Co. erzielt (dehydriertem Molken-, Malz- und Würzeagar). Am meisten fiel ab der durch Labfällung hergestellte Molkenagar.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Wiley, W. J., Wood Taint in Butter. Laboratory Experiments with special reference to Pinus radiata (insignis) and Hoop Pine (Araucaria Cunninghamii). (Journ. Council Sci. Ind. Research. Vol. 5. 1932. p. 15—24.)

Der hölzerne Geschmack, der Butter durch P. radiata verliehen, rührt von schwach ätherischen Ölen her. Der Geruch und der Geschmack, welche dann und wann von Hoop Pine herrühren, sind durch verschiedene Substanzen des Holzes entstanden, die nicht immer zu gleicher Zeit oder

zusammen vorkommen. Mehrere Packungen waren untersucht worden; weniger permeabel für die verderbenden Öle waren nur Cellophan und das gewöhnliche Pergament.

Eine einfache Laboratoriumsprüfung für die Bestimmung der verderbenden Eigenschaften des Holzes wird beschrieben. Untersuchungen wurden unternommen mit verschiedenen Einpackungsmaterialien der hölzernen Kästen, um den „hölzernen Geschmack" zu vermeiden. Diese Experimente zeigten, daß eine Bekleidung der Kästen mit Kasein-Formalin (in den Kasten gesprengelt) zum mindesten ebenso wirksam war wie die anderen Methoden und dazu viel billiger

E. Munch-Petersen (Sydney).

Schäffler, M., Über die Reinigung von Butterspülwasser. (Milchwirtschaftl. Ztg. 1933. Jahrg. 38. S. 721—723.)

Verf. unterzog das Valio-Verfahren einer Nachprüfung und fand, daß nach diesem Verfahren behandeltes Wasser zwar eine herabgesetzte Bakterienzahl enthielt, die jedoch ohne Belang ist, da peptonisierende, säuernde, gasbildende und fettspaltende Bakterien am Leben bleiben. Selbst eine fünffach höhere Dosis von Ätznatron und zwölfmal längere Einwirkungszeit als vorgeschrieben ist, konnte daran nichts ändern. Da keine Sicherheit für die Abtötung der in der Butterei schädlichen Bakterien besteht, kann das Verfahren zur Entkeimung von Buttereiwasser nicht empfohlen werden.

H. Mossel (Weihenstephan).

Hansen, H. C., Bendixen, H. A., and Theophilus, D. R., Influence of different starters on the quality of cheddar cheese. (Journ. of Dairy Science. Vol. XVI. 1933. p. 121—127.)

Es wurde sowohl mit roher wie mit dauerpasteurisierter Milch gekäst. Als Säurewecker dienten zwei Handelskulturen sowie Reinkulturen von Strept. lactis, Strept. citrovorus und Strept. paracitrovorus, einzeln oder gemischt. Als Ergebnis zeigte sich folgendes: Die Käse, die mit den Handelssäureweckern (2% Zusatz) hergestellt waren, hatten sämtlich ein befriedigendes Aroma. Die Käse mit der Strept. lactis-Reinkultur (1—2% Zusatz) waren den eben genannten im Teig und Gefüge überlegen. Bei alleiniger Verwendung von Strept. paracitrovorus (unter 4% Zusatz) erhielten die Rohmilchkäse einen charakteristischen bitteren Geschmack und zu starke Lochung. Die Käse aus pasteurisierter Milch hatten hingegen ein besseres Aroma, besonders dann, wenn Salzsäure zugesetzt worden war. Bei Verwendung von 4—10% Strept. paracitrovorus-Reinkultur zur Kesselmilch trat jedoch auch bei den Käsen aus erhitzter Milch bitterer Geschmack auf. Die Strept. citrovorus-Käse weisen alle durchweg die Fehler „ausgesprochen bitter" und „stark offen" auf. Die Käse, bei denen Mischkulturen von allen drei Streptokokkenarten (je 1%) verwendet worden waren, hatten zwar eine bessere Qualität als die mit Strept. paracitrovorus oder Strept. citrovorus allein hergestellten, blieben jedoch hinter den mit Strept. lactis- und den mit Handelssäureweckern hergestellten Käsen zurück. — Über die Einwirkung der Pasteurisierung läßt sich allgemein sagen, daß das Aroma unbeeinflußt blieb, Teig und Gefüge gegenüber der Rohmilch jedoch verbessert wurden. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Csiszar, J., Das Verhalten der anaeroben Blähungserreger des Schmelzkäses der Hitze, Säure und den Konservierungsmitteln gegenüber. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 201—227, 20 Tab.)

Bac. sporogenes, Bac. putrificus und Bac. saccharobutyricus wurden geprüft auf 1. Hitzebeständigkeit, 2. Verhalten gegenüber Säure und 3. Verhalten gegenüber 13 verschiedenen Konservierungsmitteln. Die Dauerformen der drei Bazillen werden abgetötet:

° C	Bac. sporogenes Min.	Bac. putrificus Min.	Bac. saccharobutyr. Min.
60	—	70	90
70	—	60	} 80
80	—	} 50	
90	50		50
100	6	6	4

Untersuchungen mit Reinkulturen in vitro ergaben, daß die Sporen des Bac. sporogenes bei ph 4,83, die des Bac. saccharobutyricus und Bac. putrificus bei ph 4,88 nicht mehr keimen, bzw. daß es zu keiner Gasbildung kommt. Bei einer so tiefen ph-Stufe lassen sich jedoch keine normalen Schmelzkäse mehr herstellen.

Von Konservierungsmitteln wurden geprüft: Kochsalz (7—8%), Salpeter (10%), Natriumbenzoat (4,5—6%), Borsäure (1,0—1,2%), Formaldehyd (0,01—0,03%), Ameisensäure (0,010—0,035%), schweflige Säure (0,14 bis 0,25%), Salicylsäure (0,09—0,10%), Mikrobin (3%), Hadenon (0,8—1,0%), Nipagin M. (0,3%), Nipasol T. (0,07%) und Nipakombin (0,1%). Die in Klammern beigesetzten Zahlen geben an, bei welcher Konzentration eine befriedigende konservierende Wirkung erzielt wurde. Allerdings sind so hohe Konzentrationen bei der Schmelzkäseherstellung wegen der ungünstigen Beeinflussung von Geschmack und Konsistenz der Käse nicht anwendbar, so daß auch mit diesen Mitteln die Blähung durch anaerobe Sporenbildner nicht verhindert werden kann. H. Mossel (Weihenstephan).

Hüttig, C., Versuche über Blähungserscheinungen bei Weichkäsen durch Bakterien der Coli-aerogenes-Gruppe. (Molkerei-Ztg. Jahrg. 47. 1933. S. 1196—1200, 4 Abb., 3 Tab.)

In 60 Käsungsversuchen im Laboratorium wurden aus roher und aus 10 Min. auf 63° C erhitzter Vollmilch Frühstückskäse unter Zugabe verschiedener Arten der Coli-aerogenes-Gruppe hergestellt. Die Versuche hatten folgendes Ergebnis:

1. Die stärkste Gasbildung erzeugte Bact. aerogenes, ganz gleich, ob es aus Milch, Käse, Menschendarm, Kuhkot oder Erde stammte.

2. Die sog. Paracoliarten (Erde- und Grascoli) verursachten geringere Blähung. Fehlende Indolbildung und niedriges Temperaturoptimum sind charakteristisch für diese Stämme.

3. Alle Blähungserreger waren nach etwa 14tägiger Reifezeit mit den üblichen Kulturmethoden nicht mehr nachweisbar. Warmblütercoli, das den Käse nicht blähte, nahm bis zum Ende der Reifung an Zahl fast nicht ab.

4. Bact. coli commune erzeugte in den Frühstückskäsen überhaupt keine Blähung.

5. Bei Beimpfung mit gleichen Mengen Gasbildner in rohe und erhitzte Milch wurden die Käse aus erhitzter Milch im allgemeinen stärker gebläht als die Rohmilchkäse. Daher ist jede Infektion von erhitzter Käsereimilch besonders gefährlich.

6. Eine Infektion des schon ausgeschöpften Bruches führte nicht zur Blähung.

7. Eine Mischung von Bact. coli und Bact. aerogenes verursachte geringere Blähung als Infektion mit Bact. aerogenes allein.

8. Auch die nicht geblähten, beimpften Käse wiesen bis zum Ende der Reifung deutlichen Stallgeschmack und -geruch auf.

H. Mossel (Weihenstephan).

Sacchetti, M., Contributo alla conoscenza della flora microbica di alcuni formaggi italiani. II. Nota. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 427—446.)

Der Arbeit ist folgende deutsche Zusammenfassung beigefügt:

1. Es wurden die Ergebnisse neuer ergänzender Untersuchungen über einige der früher (Ibid. Bd. 3. 1933. S. 650) beschriebenen Hefen aus Käse mitgeteilt, unter denen von besonderem Interesse ist, daß S. fragilis Inulin zu vergären vermag.

2. Beschrieben werden ferner die sporogenen Hefen: Zygosaccharomyces versicolor n. sp., Saccharomyces ellipsoideus Hansen, S. Mangini var. casei var. nov., S. unisporus Joergensen, S. Dombrowskii (Dombrowski) nov. comb., sowie eine Mycoderma- (1017) und 5 Torula-Arten, alle aus italienischen Weichkäsen isoliert.

3. Bei allen diesen Formen wurde die Resistenz gegenüber Milchsäure, Kochsalz und erhöhte Temperatur untersucht.

4. Was die Rolle der Hefen beim Reifen der Weichkäse angeht, so wird (in Übereinstimmung mit den Anschauungen Korolevs über die Rolle der Hefen in den milchsäurehaltigen, alkoholischen Produkten der Milch) ihnen eine große Bedeutung zugesprochen, insofern als sie zur charakteristischen Erweichung der Käse beitragen. Die Ergebnisse der ersten vorläufigen Untersuchungen scheinen diese Hypothese zu rechtfertigen.

Rippel (Göttingen).

Dahle, C. D. und **Barnhart, G. S.**, The effect of pasteurizing and homogenizing temperatures on certain properties of ice-cream mixes. (Journ. Agr. Res. Vol. 42. 1931. p. 675—688.)

Die Anwendung von hohen Temperaturen (170 und 180° F) beim Pasteurisieren und Homogenisieren von Speiseeismischungen erwies sich als sehr vorteilhaft bezüglich der Beschaffenheit des fertigen Produktes. Pasteurisierte man bei 170—180° F und homogenisierte darauf bei einer verminderten Temperatur von 150° F, so gingen die genannten Vorteile verschiedentlich wieder verloren. Viskosität, Gefrierzeit, Eiweißbeständigkeit und Fettverteilung wurden bei Befolgung der angegebenen Methode aufs günstigste beeinflußt.

Limbach (Leipzig).

Clague, J. A. und **Fellers, C. R.**, Time, temperature and humidity relationships in the pasteurisation of dates. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 419—426.)

Bei der Pasteurisierung der Datteln handelt es sich um die Vernichtung des B. Coli tropicale, der gewöhnlichen Coli-Form sonst völlig gleich, die zu schweren Kolititis-Fällen in England geführt hatte. B. coli

wird denn auch als Testobjekt genommen. Die Pasteurisierung konnte erfolgen bei folgender Minimalbehandlung:

87° C 20 Min. bei 96% oder mehr relativer Feuchtigkeit
82° C 30 „ „ 75% „ „ „ „
77° C 40 „ „ 69% „ „ „ „
71° C 50 „ „ 90% „ „ „ „
66° C 60 „ „ 100% „ „ „ „
63° C unter 80 Min. keine wirksame Pasteurisierung mehr.

Bei dieser Behandlung werden auch B. paratyphi B, enteritidis, dysenteriae Shiga, typhi, die gleich oder noch empfindlicher sind, abgetötet, ebenso Tuberkelbakterien, ferner Insekten. Geschmack und Aussehen der Datteln werden durch die Pasteurisierung verbessert. Diese ist technisch anwendbar. Rippel (Göttingen).

Petrowa, E. K., Mikrobiologie des Kochsalzes. (Arch. f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 326—347.)

Das aus russischen Seen gewonnene Kochsalz enthält reichlich lebende Mikroorganismen, 100 000—200 000 je 1 g, die sich aber meist sehr langsam entwickeln, so daß man obige Zahlen erst nach etwa 2monatlichem Stehen der Platten erhält. Es handelt sich fast nur um Kokken und sporenbildende Stäbchen.

Der Hauptvertreter (70 000—120 000 je 1 g) ist der durch rote Färbung in verschiedener Tönung (der Farbstoff gehört zu den Karotinen) ausgezeichnete Micrococcus roseus, dessen weitere Eigenschaften eine besondere Vorliebe für hohe Kochsalz-Konzentrationen, sehr langsames Wachstum, Neigung zur Symbiose mit anderen Mikroorganismen sind. Von sporenbildenden Stäbchen finden sich massenhaft (wobei bald die eine, bald die andere Form stärker vertreten ist) solche der mesentericus-Gruppe, B. megaterium und subtilis. Von Pilzen fand sich in einem Falle (Baskuntschak) besonders reichlich Hyalobyssus moniliformis. Die genannten Formen können sich, wie auch einige weitere, noch in gesättigter Kochsalzlösung entwickeln.

Untersuchung der Sole zeigte, daß in ihr die gleichen Mikroorganismen vorkommen, die also auf diesem Wege in das Salz gelangen, das wiederum die Infektionsquelle darstellt für diejenigen Mikroorganismen, die durch Rotfärbung von Salzwaren, Lederhäuten u. dgl. von praktischer Bedeutung sind. Eine Bekämpfung dürfte schwierig sein; Erhitzen des Salzes ist z. B. zu teuer. Rippel (Göttingen).

Brigl, P. und **Windheuser, C.**, Über Einsäuerungsversuche mit Topinamburkraut. (Tierernähr. Bd. 4. 1932. p. 163 ff.)

Zur Nachprüfung resp. Ergänzung der bisher mit Topinamburkraut vorgenommenen Einsäuerungsversuche wurden neuerliche Untersuchungen angestellt, die sehr günstige Resultate aufwiesen: Die Vergärung des Säuerungsgutes gelang einwandfrei; die gewonnene Silage bildete ein wertvolles Futter für Milchvieh. Durch seine geringen Ansprüche an den Boden, den reichlichen Zuckergehalt und seine mehrere Jahre dauernde Wuchsfähigkeit kann der Topinambur mit bestem Erfolge als Ersatz des viel anspruchsvolleren Silomaises verwendet werden. Limbach (Leipzig).

Honcamp, F., Meier, O., Schramm, W. und **Wöhlbier, W.**, Weitere Untersuchungen über den Einfluß des Waschens von frischem und eingesäuertem Zuckerrüben-

kraut auf Zusammensetzung und Verdaulichkeit desselben sowie über die hierbei entstehenden Verluste an Roh- und verdaulichen Nährstoffen. (Tierernähr. Bd. 5. 1933. S. 65 ff.)

In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen fanden Verff., daß es in jedem Falle ratsam sei, stark verschmutzte Zuckerrübenblätter vor dem Ensilieren durch gründliches Waschen von der anhaftenden Erde zu befreien. Säuerte man das ungewaschene Füllgut direkt ein und wusch dann die fertige Blattsilage, so waren die Nährstoffverluste weit größer. Aus dem vorherigen Waschen des Blattmaterials vor der Vergärung resultiert ein qualitativ wie diätetisch weit höherwertiges Produkt.

Limbach (Leipzig).

Gneist, K., Zur Bestimmung der Säuren im Silofutter nach der Wiegner-Methode. (Tierernähr. Bd. 4. 1932. S. 185 ff.)

Die Originalmethode von Wiegner schließt verschiedene Fehler und Ungenauigkeiten in sich, die mit Hilfe von neuen, durch den Verf. aufgestellten Formeln vermieden werden können. Durch Benutzung eines beigefügten Diagramms ist es mittels einfachen Ablesens möglich, nach alten Formeln berechnete Analysen auf die richtigen Werte zu bringen. Das bedeutet eine ganz wesentliche Erleichterung bei wissenschaftlichen Arbeiten, die jedem Fachwissenschaftler sehr willkommen sein wird. Limbach (Leipzig).

Gneist, K., pH-Zahl und Säureanalyse beim Silofutter. (Tierernähr. Bd. 5. 1932. S. 483 ff.)

Die Arbeit enthält weitere wesentliche Verbesserungen der alten Wiegnerschen Methode. Auch hier ist zwecks Ersparung mühevoller Rechenarbeit ein für die analytischen Arbeiten wertvolles Diagramm zu direktem Ablesen der Analysenwerte aufgestellt. — Für die Bestimmung der freien Milchsäure empfiehlt Verf. die Anwendung der elektrometrischen Titration, da mittels der bisherigen Methode viel zu hohe Werte gefunden wurden. Eine exakte Bestimmung der gebundenen Milchsäure ist bisher kaum jemals durchgeführt worden; es läßt sich annehmen, daß eine etwa 8 mal größere Menge gebundener Milchsäure als gebundene Essigsäure und eine etwa 10 mal größere Menge gebundener Milchsäure als gebundene Buttersäure vorhanden ist, bezogen auf gleiche Mengen freier Säuren.

Limbach (Leipzig).

Stuart, L. S., and James, L. H., The effect of salt on the Microbial heating of alfalfa hay. (Journ. Agric. Res. Vol. 42. 1931. p. 656—664.)

Luzerneheu wurde in Dewar-Gefäße (mit Belüftungsrohr) eingepackt, auf verschiedenen Feuchtigkeitsgrad gebracht und mit verschieden hohen Salzzusätzen versehen. Dies wirkte sich auf die Fermentation wie folgt aus: Salzbeigaben verzögerten den Beginn der Erhitzung mehr oder weniger, je nach der größer oder kleiner bemessenen Salzdosis; durch höheren Feuchtigkeitsgehalt wurde die verzögernde Wirkung des Salzzusatzes wieder ausgeglichen. — Die bakteriologische Prüfung, vorgenommen in verschiedenen Stadien der Erhitzung, ergab: 1. Feuchtheu ohne Salzzusatz: Zunahme von Schimmelpilzen und aeroben Sporenbildnern mit zunehmender Erhitzung; 2. 1% Salz: Überhandnehmen der Schimmelpilzflora; 3. 2% Salz: Abnahme der Bakterien-Keimzahl und zunehmende Verschimmelung.

Limbach (Leipzig).

Ruschmann, G., Über die Wasserbildung in Kartoffelsilagen. (Landw. Jahrbücher. Bd. 76. 1932. S. 679—691.)

Je eine stärkereiche und eine stärkearme Kartoffelsorte wurden im Buschmanndämpfer gar gedämpft und in Gruben mit wasserdurchlässigen oder undurchlässigen Böden in Schichthöhen von 75 und 150 cm eingesäuert. Für die Wasserabscheidung war die Schichthöhe bzw. der Eigendruck der Kartoffeln von Bedeutung. Die in höherer Schicht lagernden Kartoffeln gaben mehr Wasser ab und waren trockener als die in niedriger Schicht aufbewahrten. Letztere lieferten eine weniger gute Sauerkonserve als erstere. Die in Gruben mit durchlässigem Boden eingesäuerten Kartoffeln lieferten infolge geringeren Wassergehaltes ebenfalls ein besseres Sauergut, obwohl ein Teil der gebildeten Milchsäure und der im Sickersaft mitgeführten Nährstoffe verlorengegangen waren und die ins Futter nachgesogene Luft Pilzwachstum verursacht hatte. Wird durch Überdruckdämpfung der Kartoffeln die Stärke verkleistert, so bindet sie überschüssiges Wasser besser. In solchen Fällen entsteht ein sehr dichtes und jahrelang haltbares Sauerfutter. Die beiden geprüften Kartoffelsorten verhielten sich gleichartig.

R. Koch (Berlin).

Probst, Der Preßstroh-Silo. Der billigste Behelfs-Futterbehälter. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 197 und 209—210.)

Ein aus Preßstrohballen behelfsmäßig aufgebauter Gärfutterbehälter soll sich als brauchbar erwiesen haben. R. Koch (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Pape, H., Falscher Mehltau an Mohn. (Gartenwelt. Jahrg. 37. 1933. S. 289—290, m. 2 Abb.)

Peronospora arborescens kann nicht nur am Ölmohn sehr schädlich auftreten, sondern er befällt zuweilen auch den als Zierpflanze gezogenen Mohn. Die verschiedenen Befallsarten werden beschrieben und Maßnahmen zur Verhütung und Bekämpfung empfohlen.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Rath, L., Erfahrungen bei der Bekämpfung der Kohlhernie. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 79. 1933. S. 63.)

Unter gleichen Verhältnissen gebaute Kohlarten, aus gebeiztem Saatgut erzogen, zeigten sich gegenüber Plasmodiophora brassicae recht ungleich anfällig. Rotkohl „später holländischer Export" nur ganz unerheblich befallen; Weißkohl „Braunschweiger" und Rosenkohl „Westländer" stark befallen. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Kupke, W., Kalkstickstoff im Dienste der Kohlherniebekämpfung. (Gartenwelt. Jahrg. 37. 1933. S. 182—184.)

Gegen Plasmodiophora ist die Anzucht gesunden pilzfreien Pflanzenmaterials, Beizen des Saatgutes, Desinfizieren der Anzuchtkästen und -beete mit Uspulun bzw. Ceresan-Naßbeize erforderlich. Anbau auf Neuland, das seit Jahren keinen Kohl getragen hat, ist in der Praxis nicht immer möglich. Zur Bodendesinfektion ist reichliche Verwendung von Ätzkalk von Nutzen. Noch bedeutend besser wirkt jedoch Kalkstickstoff. Eine Gabe von 3—5 Ztr. Kalkstickstoff je Morgen erwies sich meist als ausreichend. Die besten Ergebnisse wurden durch eine kombinierte Kalkstickstoff-Uspulunbehandlung erzielt. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Storck, A., Gegen Mehltau auf Clematis. (Möllers Dtsch. Gärtner-Ztg. Jahrg. 48. 1933. S. 243.)

Die auf großblumigen und anderen Clematisarten besonders vorkommende Erysiphe communis (richtiger wohl Erysiphe nitida, d. Ref.) ist zu bekämpfen durch Stäuben mit gemahlenem Schwefel oder Spritzen mit 1% Schwefelkalkbrühe oder anderen schwefelhaltigen Brühen. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Jenkins, A. E., A Sphaceloma attacking navel orange fruit from orange. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 538—545, 1 fig.)

Verf. berichtet über das Vorkommen von Sphaceloma auf „Bahia navel"-Orangen aus dem Staate St. Paulo in Brasilien. Da der Pilz sich von denen von Citrus-Arten aus anderen Ländern in Kultur unterschied, wird er als Sphaceloma fawcettii var. viscosa beschrieben.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Weber, G. F., Occurence and pathogenicity of Nematospora spp. in Florida. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 384—388, 1 fig.)

Verf. fand Nematospora auf Tomaten, Grapefruit und Orangen. Nematospora gossypii wurde auf Satsuma-Orangen festgestellt und damit zum erstenmal in den Vereinigten Staaten beobachtet. Infektionen mit beiden Pilzen gelangen bei Satsuma, Tomaten und Tangerine. Die Angaben, daß die beiden Pilze durch saugende Insekten übertragen werden, konnte Verf. nicht bestätigen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Moore, E. J., Growth relations in culture of the cotton-root-rot organism Phymatotrichum omnivorum. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 525—537, 2 figs.)

Phymatotrichum omnivorum wuchs gut auf Kartoffel-Dextrose-Agar und auf Extrakten von Baumwollwurzeln, besonders gut aber auf dem genannten Agar mit Zusatz von Extrakten von Baumwollwurzeln. Extrakte von Mais-, Gerste-, Weizen- und Malviscus conzattii-Wurzeln erwiesen sich als giftig für Phymatotrichum. Verf. nimmt an, daß wasserlösliche Substanzen in den Wurzeln von resistenten Pflanzen die Resistenz bedingen. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Börner, C., Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1931. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 44—45.)

Im Jahre 1931 wurde die Reblaus in 85 Gemarkungen der west- und süddeutschen Weinbaugebiete nachgewiesen. 17 dieser Gemarkungen sind erstmalig verseucht, und zwar 3 in Baden, 8 in Hessen und 6 in Preußen, 1 in Hessen-Nassau, 5 in der Rheinprovinz. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Klemm, M., Nochmals wirtschaftliche Bedeutung des Apfelblütenstechers. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 27—29.)

Durch Beobachtungen im Versuchsgarten und Bearbeitung mehrerer tausend Meldungen der Praxis, die in den letzten 7 Jahren aus Württem-

berg, dem Hauptgebiet der Apfelbäume, gesammelt worden sind, werden die Ergebnisse früherer Jahre bestätigt, daß Beziehungen zwischen Apfelblütenstecher-Befall und Ertragshöhe der Apfelbäume nicht bestehen. Die Apfelernte wird also durch den Apfelblütenstecher nicht vermindert.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Wille, Joh., Der Kampf gegen die Fruchtfliegen in Nord- und Südamerika. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 99—101.)

Verf. schildert in anschaulicher Weise die im Staate Florida gegenüber der Mittelmeer-Fruchtfliege eingeleiteten Bekämpfungsmaßnahmen, die von der Bundesregierung der U.S.A., dem Staate Florida und den Landwirten in gemeinsamem Vorgehen durchgeführt wurden. An Geldmitteln wurden insgesamt 6 858 636,35 Dollar verbraucht. Die Zahl der beim Bekämpfungswerk beschäftigten Angestellten und Arbeiter stieg in der Hauptkampfzeit auf 6300 Menschen an. Für die Durchführung der Spritzungen wurden allein im Sommer und Herbst 1929 2 218 387 engl. Pfund Zucker, 299 309 engl. Pfund Bleiarseniat und 375 301 Gallonen Sirup verbraucht. 12 645 Fliegenfangfallen waren im Betrieb. Weiterhin wurde eine scharfe Kontrolle aller aus dem Befallsgebiet kommenden Früchte und vegetabilischen Produkte durchgeführt. Automobile, Frachtwagen und Eisenbahnwaggons wurden desinfiziert, um eine Verschleppung der Fliegen über das Sperrgebiet hinaus zu verhindern. Durch diese gründlich organisierte Arbeit gelang es, das Land Florida bis zum November 1930 (also in weniger als 2 Jahren) von der Mittelmeer-Fruchtfliege zu befreien. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hähne, H., Die Drehherzkrankheit des Kohles und der Kohlrüben. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 25—27.)

Die Drehherzkrankheit an Kohl und Kohlrüben trat 1931 verschiedentlich in bedrohlichem Maße auf. Als Erreger der Krankheit kommt eine Gallmücke in Frage, deren genaue Art, ob Contarinia torquens de Meij. oder C. nasturtii Kieffer, noch nicht geklärt werden konnte. Die Lebensweise beider Gallmücken weist keine grundsätzlichen Unterschiede auf. Die jungen Kohlpflanzen werden bereits im Saatbeet von den als Puppen überwinternden Gallmücken befallen, die ihre Eier meist auf die Oberseite der jungen Blattstiele legen. Die gelblich weißen mit Springvermögen ausgestatteten Larven saugen an der Oberfläche des Gewebes, wodurch es zu Schwellungen der Basalteile der Blattstiele und schließlich zu der gedrehten Herzform kommt. Die ausgewachsenen Larven begeben sich zur Verpuppung in die Erde. Die Zahl der Generationen schwankt je nach der sommerlichen Witterung zwischen 3 und 4 Generationen. Durch das sich in den verletzten Herzen und Blattachseln ansammelnde Wasser wird das Auftreten von Pilzen und Bakterien namentlich in feuchten Jahren sehr begünstigt, so daß es dann oft zu völliger Zerstörung der Pflanzen kommt. Verf. gibt zum Schluß verschiedene im Schrifttum erwähnte Bekämpfungsmöglichkeiten an und fordert zu deren Nachprüfung auf. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Langenbuch, R., Ergebnisse mit der Sublimatmethode gegen die Kohlfliege im feldmäßigen Kohlanbau. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 18.)

Durch eine zweimalige Anwendung einer 0,06proz. Sublimatlösung (75 ccm je Pflanze) am 4. und 14. Tag nach dem Pflanzen konnte bei frühem Blumenkohl der bei der Kontrolle etwa 54% betragende Verlust auf 5% herabgedrückt werden. Bei dieser Versuchsanstellung wurde ein Mehrertrag von 80,34 Ztr. je ¼ ha erzielt, dem an Unkosten 22 RM. gegenüberstanden. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Goetze, G., Sind die Larven von Stilettfliegen (Thereviden) Roggenschädlinge? (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 17.)

Die vielfach an oder zwischen Roggenpflanzen auftretenden Larven von Stilettfliegen, die die volkstümliche Bezeichnung „weißer Drahtwurm" führen, scheinen nach Beobachtungen des Verf.s als Schädlinge des Roggens nicht in Betracht zu kommen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Wolanke, H., Simaethis pariana, ein neuer und doch alter Schädling. (Der Obst- u. Gemüsebau. Jahrg. 79 6. 1933 6. S. 91—92.)

Die Raupe dieses Kleinschmetterlings, welche ein Apfelbaumblatt von der Mittelrippe aus zusammenrollt und längs derselben skelettiert, ist an der Straße von Wermsdorf nach Mügeln in Sachsen im August 1932 kilometerweit so massenhaft aufgetreten, daß die Bäume völlig entblättert wurden. Um auf der weniger befallenen Strecke der Straße das reifende Obst an den Bäumen zu retten, erfolgte Bespritzung mit 2proz. Chlorbariumlösung und z. T. mit 0,3proz. Bleiarsenat. Der Erfolg war vollständig. Dieses Insekt pflegt sonst nicht in Menge aufzutreten; nur von einer Massenvermehrung im Elsaß 1896 hat Taschenberg berichtet.

K. Friederichs.

Kaufmann, O., Der glanzstreifige Schildkäfer (Cassida nobilis L.) nebst einigen Bemerkungen über den nebligen Schildkäfer (Cassida nebulosa L.). (Arb. Biol. Reichsanst. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 20. S. 457—516.)

Seit etwa 1929 treten Schildkäfer (Cassida) in stärkerem Maße als früher an Rüben auf. In der Literatur wurde immer nur Cassida nobilis als Rübenschädling erwähnt; Verf. hat jedoch in Schlesien (Fliegende Station Heinrichsau) C. nobilis weit häufiger angetroffen. Diese Art legt die Eier einzeln ab. Die Merkmale zur Unterscheidung ihrer Entwicklungsstadien von denen der C. nebulosa und vittata werden angegeben. Nahrungspflanzen sind in erster Linie Zucker- und Futterrüben, Chenopodium- und Atriplex-Arten, Rote Rübe, Spinat und Mangold. Die Weibchen werden erst nach Überwinterung und Reifungsfraß im nächsten Frühjahr geschlechtsreif. Die Entwicklungszeiten bei verschiedenen Temperaturen entsprechen der Wärmesummenregel. Die Larven sind sehr empfindlich gegen Feuchtigkeit in jeder Form. Zur Überwinterung werden in der Regel Südabhänge aufgesucht; sie dauert etwa 8 Monate. Parasiten: die Tachine Pseudoptilops nitida und (wichtiger!) die Proctotrupide Tetrastichus bruzzonei. Von letzterer waren die Larven durchschnittlich zu 50% parasitiert. Künstliche Massenvermehrung des Parasiten erscheint nicht ausgeschlossen. Stärkeres oder geringeres Auftreten der Melde-Unkräuter auf oder bei den Rübenschlägen hat keinen Einfluß auf die Stärke des Befalls der Rüben durch Schildkäfer.

Man kann leicht voraussagen, ob viele oder wenige Schildkäfer im Frühjahr vorhanden sein werden, aber der Umfang des Schadens hängt von der Witterung im Mai und Juni ab. — C. nebulosa ist nicht auf 1 Generation im Jahre festgelegt. Diese Art hat ebenfalls Tetrastichus als Parasit; die Tachine wurde darin nicht gefunden. K. Friederichs.

Winning, E. v., Katastrophales Auftreten des Kartoffelkäfers in Frankreich. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 9—10.)

Verf.n bespricht an Hand einer Karte die weitere Ausbreitung des Kartoffelkäfers in Frankreich während der Jahre 1930 und 1931. Gegenüber früheren Jahren hat der Käfer 1931 infolge der vorherrschenden Südwestwinde über 140 km zurückgelegt, so daß er von der schweizerischen Grenze jetzt nicht mehr 200 km entfernt ist. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Zacher, F., Das Auftreten des Speisebohnenkäfers in Deutschland. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 29.)

Der bisher aus Deutschland noch nicht bekanntgewordene Speisebohnenkäfer (Acanthoscelides obtectus Say) konnte vom Verf. erstmalig an Bohnen festgestellt werden, die in der Umgebung von Eisleben im Freiland geerntet worden waren. Den Samenhandlungen wird empfohlen, die Beizung des Bohnensaatgutes mit geeigneten Mitteln (z. B. Areginal) vorzunehmen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Ritschl, A., Zur Bekämpfung der Maulwurfsgrille mit Rumetan. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 101.)

Das von der Firma Riedel & de Haen, Berlin-Britz, hergestellte Präparat hat sich bei der Bekämpfung von Maulwurfsgrillen gut bewährt. Es wurde 1 kg Bruchreis mit ¼ l Wasser übergossen und gemischt, bis sich die Reiskörner klebrig anfühlten. Dann wurde 50 g Rumetanpulver zugesetzt und mit dem Reis vermischt und ausgelegt. Je Ar werden ½ Pfund Reis und 12 g Rumetan benötigt, die zusammen etwa 15 Rpfg. kosten.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Werth, E. und Klemm, M., Vogelfraß und Kirschernte. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 88.)

Verff. stellten fest, daß der durch Vogelfraß an einem Kirschbaum entstandene Ernteausfall 60 Pfund (67,2%) der möglichen Ernte betrug, während er vom Gärtner auf nur 20% geschätzt wurde.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Verschiedenes.

Bronsart, H. von, Die Bodenmüdigkeit als biologisches Problem. (Naturwissenschaften. Jahrg. 21. 1933. S. 310—313.)

Verf. gibt einen zusammenfassenden Überblick über das Problem der „echten", d. i. biologisch bedingten und von chemischen wie physikalischen Einflüssen unabhängigen Bodenmüdigkeit und diskutiert ausführlich die zu deren Erklärung aufgestellten verschiedenen Theorien bzw. den Sinn der dagegen angewandten Bekämpfungsmethoden: Durch chemische Bodendesinfektion, Austrocknen und Erhitzen des Bodens erfolgt die Abtötung

von Bakterien, Protozoen, Würmern und Larven, deren Leibessubstanz den überlebenden Mikroorganismen dann als Nahrung dient, wodurch die Bodenmüdigkeit ausgeglichen und beseitigt wird; nach der Agricere-Theorie von Schreiner und Shorey sind die Bodenpartikelchen von wachsartigen, in ihrer chemischen Zusammensetzung der Stearinsäure nahestehenden Häutchen umgeben, die mittels chemischer Agentien (CS_2, Toluol) bzw. durch Erhitzen des Bodens zum Schmelzen gebracht werden, so daß die den Mikroben bis dahin unzugänglichen Nährstoffe wieder ausgenutzt werden können. — Der von Waksman geprägte Begriff des „mikrobiologischen Gleichgewichts" sollte vermieden werden, da am Bodenleben durchaus nicht nur Mikroorganismen beteiligt sind. Glücklicher gewählt ist die von Francé gebildete Bezeichnung „Biozönose", womit die Wechselwirkung aller beteiligten edaphischen Lebewesen sowie der höheren Pflanzen und ihrer Stoffwechselprodukte umfaßt wird.

Limbach (Leipzig).

Westermann, W., Desinfektionsversuche mit Isopropylalkohol und Aethylalkohol unter Zusatz eines Seifenpräparates Baktol. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 154—165.)

Die beste Wirkung mit Aethylalkohol ist bei einer Konzentration von 70% zu erzielen. Die Wirksamkeit des Alkohols beruht wohl hauptsächlich auf seiner eiweißfällenden Eigenschaft. Bei der Händedesinfektion spielt außerdem sein Vermögen, die Haut zu härten und die Bakterien zu fixieren, eine Rolle. Der Desinfektionswert der aliphatischen Alkohole ist nicht gleich, sondern nimmt mit steigender Stellung in der Reihe der Homologen zu. So zeigte sich, daß ein 50 proz. Isopropylalkohol von gleicher Wirkungsstärke ist wie ein 70 proz. Aethylalkohol. Sehr gute Desinfektionsergebnisse (nach 3 Min. langem Waschen Sterilität der Hände, die vorher mit 7,6 Milliarden Colibakterien infiziert wurden) wurden mit 30 proz. Isopropylalkohol unter Zusatz von 1% Baktol erzielt. Sie waren günstiger als bei Versuchen mit 50 proz. Aethylalkohol mit 1% Baktol. Außer erhöhter Desinfektionswirkung hat Baktol-Zusatz den Vorteil, daß der unangenehme Äthergeruch des Isopropylalkohols aufgehoben wird. Irgendwelche Schädigungen oder Reizungen der Hände wurden nicht beobachtet.

Rodenkirchen (Duisburg).

VI. Internationaler Botanischer Kongreß

Amsterdam, 2.—7. September 1935.

Der Vorbereitungsausschuß des Sechsten Internationalen Botanischen Kongresses ist von verschiedenen Seiten gebeten worden, die Daten des Kongresses zu ändern; demzufolge ist jetzt beschlossen worden, den Kongreß in Amsterdam abzuhalten

vom 2. bis zum 7. September 1935.

Eine erste Notiz über den Kongreß ist an manche Adressen versandt worden; weitere Exemplare können vom Sekretär, Dr. M. J. Sirks in Wageningen (Holland) bezogen werden.

Abgeschlossen am 11. Dezember 1933.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 17|20.
Ausgegeben am 30. Januar 1934.

Bodenbakteriologische Untersuchungen auf pflanzensoziologischer Grundlage. II. Azotobacter chroococcum in den Kulturböden des Gebietes östlich vom Neusiedlersee.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.]

Von **Hans Wenzl.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

In Teil I dieser Studien (Wenzl 1934) wurde über die Ergebnisse bodenbakteriologischer Untersuchungen in den Steppen-, Halophyten- und Hygrophytengesellschaften im Gebiet östlich vom Neusiedlersee berichtet. Die eingehenden Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß für jeden natürlichen, von allen Kultivierungsmaßnahmen unbeeinflußten Bestand aus der Artenzusammensetzung das Vorhandensein oder Fehlen von Azotobacter chroococcum im Boden erkannt und vorausgesagt werden kann. An Hand der pflanzensoziologischen Karte des Gebietes, die von H. Bojko entworfen wurde, läßt sich auch die Verbreitung von Azotobacter kartographisch festhalten, wohl der erste Versuch — wenn auch nur für ein kleineres Gebiet von etwa 300 qkm —, für einen Mikroorganismus etwas den „Pflanzenarealen“ Analoges zu schaffen.

Zur näheren Charakterisierung des untersuchten Gebietes, das im Burgenland zwischen dem Ostufer des Neusiedlersees und der ungarischen Grenze gelegen ist, sei auf Teil I verwiesen. Nur das Wesentlichste sei kurz wiederholt.

Charakteristisch für diesen über 300 qkm großen Landstrich ist die vollständige Abflußlosigkeit. (Siehe die beiliegende Karte.) Die Niveaudifferenzen betragen nur 14 m. Ein besonderes Gepräge erhält die Landschaft durch die zahlreichen kleinen Seen, „Lacken“, die während der trockenen Jahreszeit teilweise oder vollständig austrocknen. Nur wenige der Depressionen sind durch Quellen ausgesüßt; an solchen Stellen finden sich üppige Wiesen, während an den Salzlacken Halophytengesellschaften auftreten, die je nach dem Salzgehalt bedeutende Verschiedenheiten aufweisen. Von den Salzen sind Natriumsulfat, Magnesiumsulfat und Soda die wichtigsten, Natriumchlorid tritt stark zurück. In den höher liegenden Teilen des Gebietes finden sich Steppengesellschaften als Indikatoren eines überaus trockenen, kontinentalen Klimas: Im Zentrum des Gebietes erreicht die jährliche Niederschlagsmenge nicht einmal den Wert von 500 mm. Zusammen mit den hohen Sommertemperaturen (Julimittel 22°) sind die klimatischen Verhältnisse so extrem wie in keinem anderen Teile Österreichs. Über die Bodenverhältnisse unterrichten die Untersuchungen von Pozdena (1932), auch im ersten Teil dieser Untersuchungen wurden eine Reihe von Erfahrungen (p_H, Humus-

gehalt und Karbonatgehalt) mitgeteilt. Bodenkarten, wie sie von Till-Pozdena (1930) für landwirtschaftlich-praktische Zwecke herausgegeben wurden, liegen leider nur für den nördlichsten Teil des Gebietes vor, aus dem allerdings ein großer Teil der untersuchten Böden stammt. Neben weitgehend entkalkten Lehmböden überwiegen kalkhaltige Böden: Sand-, Lehm- und Tonböden, torfige Stellen, sowie Salzböden, die nach Salzgehalt, Humusgehalt und Korngröße bedeutende Unterschiede aufweisen. Auch der Untergrund ist sehr verschieden.

Neben dem Salzgehalt des Bodens und den physikalischen Eigenschaften — reine Sandböden haben eine von den lehmigen Böden sehr verschiedene Vegetation — ist vor allem die Höhe über dem Grundwasserspiegel für die Ausbildung der Pflanzengesellschaften bestimmend. Die eingehenden pflanzensoziologischen Studien von Bojko (1931, 1932a, b, c) haben aufgezeigt, daß Höhenunterschiede von wenigen Dezimetern, ja Zentimetern, sich in der Pflanzendecke in streng gesetzmäßiger Weise auswirken. Für die Pflanzengesellschaften, wie für die einzelnen Arten ist das Vorkommen in bestimmten Höhenzonen charakteristisch.

In der Höhe von 50—200 cm über dem Grundwasserspiegel von Ende Juli 1930, der für alle Angaben als Vergleichsbasis dient, findet sich im ganzen Gebiet die Gesellschaft von Cynodon dactylon sehr weit verbreitet, die auch in der trockenen Jahreszeit durch ihre lebhaft grüne Farbe kenntlich ist. Alle Gesellschaften, die höher liegen als das Cynodontetum, Festucetum pseudovinae und die Sandgesellschaften enthalten niemals Azotobacter. Die Cynodon-Gesellschaft selbst ist in den höheren Partien negativ. Die tiefer liegenden Teile, die an Molinietum und Plantaginetum maritimae grenzen, wie auch diese beiden gleichfalls sehr weit verbreiteten Gesellschaften, enthalten stets Azotobacter. Auch alle übrigen Assoziationen auf feuchten, salzarmen oder mäßig salzhaltigen Böden sind gleichfalls positiv (Caricetum, Phragmitetum, Juncetum Gerardi, Schoenetum nigricantis, Bolboschoenetum maritimae usw.), während an den Standorten der extremen Halophyten wie Lepidium crassifolium, Camphorosma ovata, Suaeda maritima, Crypsis aculeata und Atropis distans Azotobacter stets fehlt.

II. Untersuchungmethoden.

Neben den natürlichen Pflanzenbeständen wurden auch eine große Zahl Kulturböden — Äcker und Weingärten — untersucht, worüber im vorliegenden Teil II berichtet wird.

Die Methoden waren die gleichen wie die in Teil I beschriebenen. Die Proben wurden aus etwa 15—35 cm Tiefe steril entnommen und innerhalb 24 Stunden aufgearbeitet. Die Untersuchungen wurden in den Monaten September bis Dezember 1932 durchgeführt, nur eine kleine Zahl von Proben stammt aus dem Herbst des vorhergehenden Jahres. Die Nährlösung enthielt auf 1 Liter Leitungswasser 15 g Mannit, 0,75 g K_2HPO_4, 0,3 g $MgSO_4$, 0,2 g NaCl, 0,03 g $FeCl_3$ und 0,03 g $Al_2(SO_4)_3$ und einen Überschuß von $CaCO_3$. Je 40 ccm Nährlösung wurden mit einer reichlichen Menge frischer Erde (8—10 g) beimpft. Zur Identifizierung von Azotobacter wurde stets auch die mikroskopische Kontrolle durchgeführt. Wie die Braunfärbung der

Decke erwies, handelte es sich stets um A z o t o b a c t e r c h r o o c o c c u m. Auch Gasbildung und Produktion von Geruchstoffen wurde kontrolliert.

Das p_H der Böden wurde mit dem H e l l i g e - Komparator bestimmt (Boden : Wasser wie 1 : 2,5). Der Humusgehalt wird schätzungsweise wiedergegeben:

*****: Tiefbraun, sehr stark humos.
****: Starke Braunfärbung, stark humos.
***: Deutlich humos.
**: Wenig humos.
*: Sehr wenig humos, schwache Humusfärbung.

Der Karbonatgehalt wird nach der Intensität der Gasbildung beim Übergießen mit HCl (1 : 1) angegeben:

***: Starkes anhaltendes Aufbrausen, über 5% Karbonat.
**: Deutliche, aber nicht anhaltende Gasbildung, 1·4% Karbonat.
*: Nur beim Behandeln der wässerigen Bodensuspension mit HCl ist eine minimale Gasbildung zu erkennen. Etwa 0,5—1% Karbonat.

Die Standortsbezeichnung in den Tabellen wird in abgekürzter Form durch römische Ziffern durchgeführt, womit einzelne auch in die Karte eingetragene Örtlichkeiten bezeichnet werden.

Abb. 1. Karte des östlichen Burgenlandes[1]) (1 : 250 000).

I. Weiden.
II. Zwischen I und III.
III. Kreuzung der Bahn Weiden—Gols mit der Straße Weiden—Podersdorf.
IV. „Florianikapelle“ auf Cote 125 an der Straße Weiden—Podersdorf.
V. „Römische Quelle“, westlich von IV.
VI. „Viehhüter“, südwestlich von IV und V.
VII. „Siebenmahdhügel“ an der Straße Weiden—Podersdorf, südlich IV.
VIII. Podersdorf.
IX. Cote 126, südlich Podersdorf.
X. Sziklacke von Podersdorf, südlich IX.

[1]) Herrn cand. phil. A. S t r o n d l danke ich für die Herstellung der Zeichnungen.

XI. Kappler-Weingut am „Damm“, südlich VIII, westlich X.
XII. „Ließ“ (Flurbezeichnung).
XIII. Höllenteich, südlich X.
XIV. Scheibenteich, südlich XIII.
XV. Bauerngut Groiß, westlich XIII.
XVI. Oberer Stinkersee.
XVII. Oberer Pappelwald am Damm, nordwestlich XVI.
XVIII. Unterer Pappelwald, südlich XVII.
XIX. Unterer Stinkersee.
XX. Silberlacke.
XXI. Föhrenwald am Damm, westlich XX.
XXII. Szicklacke von Illmitz.
XXIII. Kirchsee südwestlich von Illmitz.
XXIV. Herrensee, südwestlich XXIII.
XXV. Mosadolacke.
XXVI. Szerdahelyer Lacke.
XXVII. Lange Lacke.
XXVIII. Sziklacke von St. Andrae.
XXIX. St. Andrae.

Die Parallelproben (a, b . . .) von einem Standort liegen stets etwa 1—2 m voneinander entfernt.

Eingeklammert stehende Bodenbezeichnungen (in den Tabellen) bedeuten, daß der betreffende Bodenbestandteil stark zurücktritt.

Zur Veranschaulichung der Zonenbezeichnung (oberes Festucetum, mittleres Cynodontetum usw.) diene die folgende graphische Darstellung der Höhenverbreitung jener Pflanzengesellschaften, in deren Bereich die untersuchten Kulturböden liegen.

Plantaginetum
Molinietum
Cynodontetum
Potentilletum aren.
Festucetum pseudovinae
0 100 200 300
Juli 1930
März 1931

Abb. 2. Höhenverbreitung (in Zentimetern) der Pflanzengesellschaften. Grundwasserspiegel vom Juli 1930 und März 1931.

Das Molinietum auf glykischem Boden und das Plantaginetum auf schwach salzigem Boden haben eine ähnliche Höhenverbreitung. Die Sandgesellschaften, von denen nur das Potentilletum arenariae, als die am weitesten verbreitete, in die Darstellung aufgenommen wurde, reichen verschieden weit nach unten. Weiter sind in der Abbildung noch das Festucetum pseudovinae als hochliegende (über 200 cm), einst weit verbreitete, heute größtenteils in Ackerland umgewandelte Steppengesellschaft und die nach unten anschließende Zone der Cynodon dactylon-Gesellschaft, die auch heute noch sehr weite Flächen einnimmt, aufgenommen.

Für die Untersuchungen war vor allem der Umstand maßgebend, daß Kulturland von sehr verschiedenem Alter für die Untersuchung zur Verfügung stand: Felder, die erst vor wenigen Monaten angelegt worden waren, in allen Abstufungen zu solchen, die bereits seit Jahrzehnten regelmäßig genutzt werden. Es war weiter durchwegs möglich, den Zonencharakter bestimmter Felder, bzw. einzelner Probeflächen genau zu bestimmen, da in der näheren oder weiteren Umgebung stets größere oder kleinere Überreste völliger natürlicher Pflanzenbestände vorhanden waren und so unter genauer Berücksichtigung der Höhe und der Bodenbeschaffenheit der Probeflächen die ehemalige Pflanzengesellschaft rekonstruiert werden konnte.

III. Untersuchungsergebnisse.

1. Böden aus azotobacterpositiven Zonen.
(Tabelle 1.)

Daß alle jene Äcker oder Teile von Äckern, die in der Zone einer Pflanzengesellschaft liegen, die natürlicherweise positiv ist, gleichfalls Azotobacter enthalten, war zu erwarten und wurde durch die Untersuchung einer Reihe von Proben bestätigt.

1 bis 6 (Tab. 1) sind Weingärten und Äcker aus dem Plantaginetum, 7 bis 9 solche aus dem Molinietum, 10 bis 13 Proben von Weingärten und Äckern aus der Grenzzone von Plantaginetum und Cynodontetum. 14 bis 19 stammen aus der Grenzzone Molinia-Cynodon, die stets Azotobacter enthält.

Die Standorte 20 bis 30 liegen im unteren Cynodontetum, in jener Höhenzone, in der Azotobacter im natürlichen Bestand zum Teil nur fluktuierend auftritt. Fast alle hier angeführten Felder (20 bis 30) reichen mit ihrem untersten Ende in die stets positiven Zonen. In allen Proben war Azotobacter nachzuweisen.

Die Gesellschaft von Plantago maritima findet sich auf allen jenen schwach halischen Böden, die im Frühling nach der Schneeschmelze, wenn auch nur für kurze Zeit, überschwemmt sind. Das gleiche gilt für das Molinietum an salzfreien Stellen.

Die Felder reichen meist nur mit ihrem unteren Ende in diese Pflanzengesellschaften hinein. In tieferliegenden Partien findet man ganz selten Kulturland. Im „Seebecken“[1]), wo stellenweise der Versuch gemacht wurde, Böden, die dem tieferen Plantaginetum angehören (oder anderen Pflanzengesellschaften unter ganz ähnlichen Bedingungen), zu kultivieren, zeigte es sich bald, daß derartige Versuche wenn nicht aussichtslos, so doch unrentabel sind.

2. Mittlere und obere Cynodonzone. (Tabelle 2.)

Die Proben von Kulturland aus den mittleren und oberen Teilen der Cynodonzone sind teils positiv, teils negativ. Standort 1 aus dem mittleren Cynodontetum ist positiv. Das zwischen 1925 und 1928 angelegte Feld, das neben älteren azotobacterpositiven Äckern liegt, reicht mit seinem untersten Ende in das stets positive Festucetum trichophyllae[2]). Standort 2 stammt mitten aus einem großen, geschlossenen Komplex alter Felder in der Zone des oberen Cynodontetum; wie alle alten Felder — alt im Sinne von: vor mindestens 20—30 Jahren angelegt — ist auch dieses positiv. Standort 3, 4 und 5 sind Felder, die alle mit dem unteren Ende in das Molinietum reichen, mit den oberen Teilen aber dem hochgelegenen Festucetum pseudovinae angehören. Diese erst 1928, bzw. 1930 angelegten Felder sind im Molinietum positiv, desgleichen auch im Cynodontetum bis an die Grenze des Festucetum pseudovinae. Standort 6 liegt ähnlich wie 2 in einer geschlossenen Reihe alt angelegter Felder. Interessant ist der Ver-

[1]) Als „Seebecken“ wird der schmale Landstreifen zwischen Ostrand des Sees und „Damm“ (siehe S. 364) bezeichnet.

[2]) Das Festucetum trichophyllae ist eine nicht sehr weit verbreitete Gesellschaft, die in der Artenzusammensetzung einem schwach halisch beeinflußten Molinietum entspricht. 30(25)—60 cm Höhenverbreitung.

Tabelle 1.

Karbonatreaktion: ***

	Standort	Boden	Humus	pH	Zone	Alter	Azotobacter
1. ab	Weingarten XX	Sand	**	—	Plantaginetum	nach 1925	**
2. ab	Weingarten im Seebecken zw. VI u. VIII	Ton-Kies	**	8,2	,,	nach 1925	**
3. abc	Weingarten zwischen IX u. X	Lehm	***	7,8 7,6	Unteres Plantaginetum	10—15 Jahre	***
4. ab	Acker XX	Lehm-Sand	****	8,3 8,4	Plantaginetum	nach 1925	**
5. abc	Acker XV	Lehm	*****	8,0 8,3	,,	1928	***
6. abcd	Acker XV	Lehm-Sand	***	7,9 8,0	,,	1930	****
7. ab	Nahe 2, Acker an der anderen Seite des Dammes	Lehm	*****	7,7 7,9	Molinietum	?	**
8. ab	Acker V	Lehm	*****	7,8 7,9	,,	nach 1925	**
9. ab	Zwischen VII u. VIII an der Straße	Lehm-Sand	****	7,5 8,1	Seslerietum-Plantaginetum	alt	**
10. abc	Weingarten zwischen IX und X	Sand-Lehm	***	7,6	Plantaginetum-Cynodont.	alt	***
11. ab	Acker XXV	,, ,,	****	7,9 7,9	,, ,,	?	**
12. ab	Zwischen XXV und XXVII	Lehm	*****	7,6 8,1	,, ,,	?	**
13. ab	Zwischen XXVII und XXVIII	Lehm-Sand	*****	7,9 7,7	,, ,,	alt	**
14. ab	Acker XV, gegen XIV	Sand-Lehm	***	—	Unteres Cynodontetum	1928	**
15. abc	Acker II	Lehm	*****	7,3 7,4 7,5	Cynodontetum-Molinietum	um 1925	***
16. ab	Zwischen II und III	,,	*****	8,4 8,7	Unteres Cynodontetum	nach 1925	**
17. ab	Acker zwischen IV und V	,,	*****	7,8	Cynodont.-Molinietum	1930	**
18. ab	Acker V	,,	****	7,5 7,6	,, ,,	nach 1925	**
19. ab	Acker II	Lehm-Sand	*****	7,7	,, ,,	nach 1928	**
20. abc	Zwischen I und II	Lehm	*****	7,7	,, ,,	alt	***
21. ab	Zwischen II und VI	Lehm-Sand	****	7,4 7,3	Unteres Cynodontetum	?	**
22. ab	Derselbe Acker wie 6, etwas höher	Sand-(Lehm)	***	—	,, ,,	1930	**
23. ab	Acker XIV	,, ,,	***	—	,, ,,	1930	**
24. ab	Weingarten XI	Lehm-Sand	***	8,0	,, ,,	1904	**
25. ab	Weingarten XI	,, ,,	***	7,9 8,0	,, ,,	1904	**
26. abc	Acker XI, Dammhang	,, ,,	**	7,6 8,3 8,3	Cynodont.-Plantaginetum	alt	***
27. ab	In der Nähe	,, ,,	***	7,9	,, ,,	,,	**
28. abc	In der Nähe etwas höher	,, ,,	****	7,9 7,9 7,5	Unteres Cynodontetum	,,	***
29. ab	Acker II	Lehm	*****	7,6	,, ,,	1932	**
30. ab	Acker XXVII	,,	*****	7,7 7,9	,, ,,	?	**

Tabelle 2.

	Standort	Boden	Humus	pH	$CaCO_3$	Zone	Alter	Azotobacter
1. ab	Acker II	Lehm	*****	7,5	—	Mittleres Cynodontetum	nach 1925	**
2. abc	Acker nördlich VIII	,,	****	7,5 7,7	**	Oberes ,,	alt	***
3. ab	Acker V, dasselbe Feld wie Tab. 1, 8	,,	*****	7,3 7,4	**	Oberstes ,,	nach 1925 1928 (?)	**
4. ab	Zwischen IV und V	Lehm-Sand	****	7,3 7,5	**	,, ,,	1930	**
5. ab	Feld neben 4.	,, ,,	*****	7,5 7,7	**	,, ,,	1930	**
6. ab	Zwischen XXI und XXII	Lehm	*****	7,8 7,9	—	Cynodontetum	alt	**
7. ab	Südlich XX	Sand	**	7,6	—	,,	1928 oder spät. angelegt	00
8. ab	Acker in nächster Nähe	,,	***	—	—	Dieselbe Höhe wie 7	einige Jahre älter als 7 (1923 ?)	**
9. ab	Weingarten XII	Lehm-(Sand)	****	7,7	*—**	Ob. od. mittl. Cynodont.	um 1904	**
10. abc	Weingarten XII, Ostrand von X	,, ,,	*****	7,9	***	,, ,, ,, ,,	um 1904	***
11. ab	In der Nähe	Lehm-Sand	*****	7,7	***	,, ,, ,, ,,	um 1904	**
12. ab	Derselbe Weingarten	Lehm-(Sand)	*****	8,0	***	,, ,, ,, ,,	um 1904	**
13. ab	Acker östlich XIII	,, ,,	*****	7,5	—	,, ,, ,, ,,	alt (?)	(**)
14. abc	In der Nähe	,, ,,	*****	7,7 7,7	**	Mittleres Cynodontetum	alt	***
15. abc	Dasselbe Feld, etwas höher	,, ,,	*****	6,9	*	Oberes Cynodontetum	alt	***
16. abc	Zwischen XXVIII u. XXIX	,, ,,	*****	7,6 7,6 7,6	**	,, ,,	alt	***
17. ab	Nahe XXVIII	,, ,,	*****	7,7 7,9	*	,, ,,	alt	**
18. abc	Acker XXVIII	,, ,,	*****	7,4 7,6 7,6	—	Mittleres Cynodontetum	alt	***
19. ab	Zwischen XXV u. XXVII	Lehm-Sand	****	8,1 8,1	—	,, ,,	alt	**
20. abc	Dammhang, dasselbe Feld wie Tabelle 1, 7, höher	Sand	***	7,5	***	,, ,,	nach 1923	000
21. abcd	Acker XV, gegen X	Lehm-Sand	****	7,8 8,1	***	,, ,,	1928	0000
22. ab	Weingarten XV, gegen XVII	Sand-(Lehm)	***	7,9 7,8	***	,, ,,	1928	00
23. abc	Acker XV, gegen XII	Lehm-(Sand)	*****	7,2 7,3 7,5	*	Oberstes ,,	1928	000
24. abcde	Acker XV, nahe 23.	,, ,,	*****	7,3 7,5 7,5	**	Oberes ,,	1928	****0
25. abcde	Acker XV, nahe 22, tiefer.	Lehm-Sand	****	7,7 7,7 7,9 7,9	***	Mittleres oder unteres Cynodontetum	1928	****?
26. abcdef	Acker XV, zwischen I 5 und II 25	,, ,,	*****	7,3 7,6 7,7	**	Oberstes Cynodontetum	1928	*****0

gleich von 7 und 8, zwei Felder aus genau der gleichen Zone auf stark sandigem Boden aus der Mitte oder der unteren Hälfte der Cynodon-Zone. Während aber das negative Feld nicht älter als 4 Jahre ist, ist das azotobacterführende danebenliegende Feld schon bedeutend früher angelegt worden. Standort 9 bis 12 sind Proben aus vor etwa 30 Jahren angelegten Weingärten aus der oberen Cynodon-Zone, die sämtlich Azotobacter enthalten, wie auch die in der Nähe liegenden „alten“ Felder (13 bis 15). Standort 16 bis 19 sind gleichfalls schon seit Jahrzehnten in Kultur stehende Flächen aus den von den übrigen Standorten weit entfernten südöstlichen Teilen des Gebietes aus den mittleren und höheren Teilen der Cynodon-Zone: alle enthalten Azotobacter. Probe 20 stammt aus dem gleichen Feld, aus dem auch Probe 7 (Tab. 1) entnommen wurde. Während aber die tiefliegenden, dem Molinietum angehörigen Teile Azotobacter führen, sind die dem mittleren Cynodontetum zuzurechnenden Partien auf dem rein sandigen Boden des „Dammes“ (vgl. S. 364) negativ. Wie auch aus weiteren Beobachtungen zu ersehen ist, geht die Besiedlung rein sandiger Böden durch Azotobacter viel schwieriger und langsamer vor sich als die Besiedlung lehmiger Felder.

Bemerkenswerte Ergebnisse brachte die genauere Untersuchung der im Jahre 1928 angelegten Felder an der Westseite des Höllenteiches (XV).

Die Standorte 22, 25 und 26 stellen zusammen mit den Proben 5 und 14 (Tab. 1) ein Profil durch ein Feld dar. 5 und 14 aus der Plantago-Zone — an einen Lepidium crassifolium-Standort angrenzend — sind positiv; ebenso auch 26 aus der obersten Cynodon-Zone auf lehmigem Boden und 25, aus einer kleinen Senke (mittlere oder untere Cynodon-Zone). Wenige Meter von 25 entfernt schließt nach oben auf dem sandigen Dammhang ein Weingarten an, aus dessen untersten Teilen (mittleres Cynodontetum) 22 stammt, etwas höher gelegen als 25 aber tiefer als 26. Dennoch ist 22 wie der ganze am Damm liegende Weingarten frei von Azotobacter. Ein neues Beispiel für das langsame Vordringen von Azotobacter in den Sandböden. Die ursprünglich gleichfalls negativen hochgelegenen Teile des lehmigen Feldes wurden in den wenigen zur Verfügung stehenden Jahren (seit 1928) bereits besiedelt.

Die beiden Standorte 23 und 24 liegen am selben Landrücken (zwischen XII und XV) im oberen Cynodontetum. Standort 24, den tieferliegenden Teilen des Feldes näherliegend, ist positiv. Standort 23 in einem Teil des Feldes, wo es nirgends in der Nähe in positive Zonen reicht, ist negativ. Wohl liegt 24 auch — ganz wenig — tiefer als 23, kann daher auch schneller besiedelt werden, andererseits liegt der negative Standort 23 auch nicht tiefer als der positive Standort 26; auch in der Bodenbeschaffenheit ist kein auffallender Unterschied zu konstatieren. Der Karbonatgehalt allerdings ist bei 23 deutlich niedriger als bei 26. Aus Untersuchungen aus dem Festucetum pseudovinae ist aber bekannt, daß auch Böden, die keine Karbonatreaktion, geben im Laufe von wenigen Jahren besiedelt werden können. Standort 26 aber liegt der positiven Zone (5, 14, Tab. 1) viel näher als 23: Wohl ein recht eindeutiger Beweis, daß der Gang der Besiedlung durch Azotobacter auch eine Funktion der Entfernung von den positiven Zonen ist.

Die p_H-Werte der Böden liegen fast ausschließlich zwischen 7,3 und 8,1. Eine Beziehung zwischen dem Vorkommen von Azotobacter und der Wasserstoffionenkonzentration läßt sich nicht feststellen. Die p_H-

Werte der Böden, in denen Azotobacter fehlt, liegen zwischen 7,2 und 8,1.

3. Zone des Festucetum pseudovinae. (Tab. 3.)

Nach oben schließt an die Cynodon-Zone in allen lehmigen, nicht rein sandigen Böden das Festucetum pseudovinae an, eine typische Steppengesellschaft, die nur mehr an einzelnen kleineren Stellen erhalten ist; der größte Teil des Gebietes in dieser Höhenzone (über 200 cm über dem Grundwasser) ist schon seit langem in Ackerland übergeführt.

Einige Proben stammen aus dem höchsten Teil des ganzen Gebietes (IX, Cote 126 südlich Podersdorf). Die ursprüngliche Pflanzengesellschaft ist nicht mehr festzustellen, da alles in Kulturland umgewandelt ist. Der Höhenlage nach gehört das Gebiet sicherlich zum Festucetum. Alle Proben aus diesen alten Kulturböden enthalten Azotobacter (1, 2, 3). Von allen übrigen untersuchten Böden aus der Festuca-Zone unterscheiden sich diese Proben durch den relativ hohen Kalkgehalt und — damit im Zusammenhang — durch das etwas höhere p_H.

Die Standorte 4, 5 und 6 bezeichnen zwei ganz junge Felder. Standort 4 stammt aus einem 1928 angelegten Acker, der neben älteren Feldern liegt; alle 4 Proben daraus waren positiv, ebenso wie die Proben aus dem dem Festucetum trichophyllae angehörenden unteren Ende dieses Feldes. Standort 5 und 6 gehören einem daneben liegenden jüngeren Acker an (1930 oder 1931), der mit dem unteren Ende in das Molinietum reicht. Im höchsten Teil, der wie 4 der unteren Festuca-Zone angehört, findet sich wohl Azotobacter, aber nicht in allen Proben. Die Karbonatreaktion ist wie bei den meisten Böden aus dem unteren Festucetum ziemlich stark.

Alle weiteren Proben stammen aus den Feldern östlich und westlich der Straße Weiden—Podersdorf, die durch lange Strecken durch das Festucetum pseudovinae führt (Abb. 3).

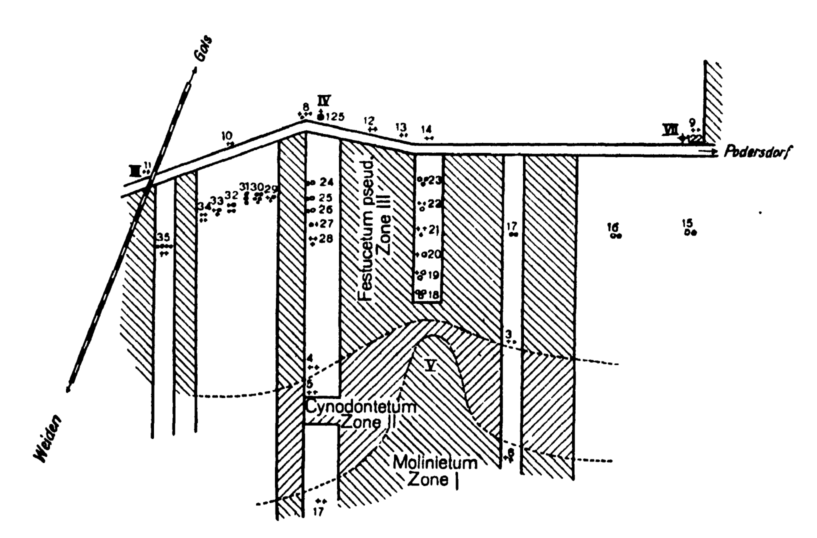


Abb. 3. Schematischer Lageplan der Äcker in der Umgebung der „Römischen Quelle“ (V).

Tabelle 3.

	Standort	Boden	Humus	PH	$CaCO_3$	Zone	Alter	Azotobacter
1. ab	Acker IX	Lehm	*****	—	***	Hochste Erhebung des Gebietes	sehr alt	**
2. ab	Acker IX, in der Nähe	„	*****	7,6 7,9	***	Desgl.	„ „	**
3. ab	Acker IX, in der Nahe	„	*****	7,6 7,5	***	Desgl.	„ „	**
4. abcd	Acker II, dasselbe Feld wie 1 (Tab. 2)	„	*****	7,4 7,4 7,4	**	Unt. Festucet. pseud.	1928	****
5. abcde	Nahe 4, etwas hoher	„	*****	7,4 7,5 7,5 7,6	**	„ „ „	1930	***?0
6. abcd	Dasselbe Feld wie 5, nahe 5	„	*****	7,5	***	„ „ „	1930	***?
7. abc	Acker VII	„	*****	7,3 7,3 7,4	**	Mittl. Festucetum	alt	***
8. abcd	Acker IV, ostl. d. Straße von I nach VIII	Lehm-(Sand)	****	7,4 7,4 7,5	(0)	Oberes Festucetum	„	****
9. ab	Zwischen IV u. VII, ostl. der Straße von I nach VIII	„ „	*****	7,1 7,1	0—*	„ „	„	**
10. ab	Zwischen III u. IV, ostl. der Straße von I nach VIII	„ „	*****	7,2 7,3	(0)	Mittl. Festucetum	„	**
11. ab	Acker III, ostl. der Straße von I nach VIII	L.-S., Kies	*****	7,4 7,6	*	Unteres Festucetum	„	**
12. ab	Acker IV, ostl. der Straße von I nach VIII	Lehm-Sand	*****	7,6	*	Oberes Festucetum	„	**
13. ab	In der Nahe von 12	„ „	*****	7,3 7,3	*	„ „	„	**
14. ab	In der Nahe von 13	„ „	*****	7,1 7,4	*	„ „		**
15. ab	Nahe 9, aber westl. d. Straße von I n. VIII	Lehm	*****	6,8 6,8	(0)	„ „	nach 1925	00
16. ab	In der Nähe von 15	„	*****	6,9	(0)	„ „	„ 1925	00
17. ab	Nahe IV u. V	„	*****	6,6 6,7	(0)	„ „	„ 1925	00
18. ab	„Isoliertes“ Feld zwischen IV u. V	Lehm-Sand	*****	6,6 6,9 7,1	*	Mittl. Festucetum	1928	000
19. abc	Dasselbe Feld nahe 18, ostl. von 18	Lehm-(Sand)	*****	7,6	**	„ „	1928	*00
20. ab	Dasselbe Feld ostl. von 19	„ „	*****	7,4	**	„ „	1928	*0(?)
21. abc	Dasselbe Feld ostl. von 20	„ „	*****	6,6 6,7 6,9	*	Oberes Festucetum	1928	***
22. abc	Dasselbe Feld ostl. von 21	„ „	*****	7,6	**	„ „	1928	**0
23. abc	Dasselbe Feld ostl. von 22 nahe IV, schon an der Straße	„ „	*****	6,7	0	„ „	1928	000
24. ab	Dasselbe Feld wie 5 (Tab. 2) bei IV	Lehm	*****	6,7 6,9	—	„ „	1930	00
25. ab	Feld daneben, dasselbe Feld wie 4 (Tab. 2)	„	*****	—	*	„ „	1930	00
26. ab	Dasselbe Feld wie 24, in der Nähe von 24	Lehm-(Sand)	*****	6,7 6,8	*	Mittleres Festucetum	1930	00
27. ab	Dasselbe Feld wie 26, ganz nahe nach dem Ackern gepruft	„ „	*****	6,7 6,9	*	„ „	1930	*0
28. abc	Dasselbe Feld wie 25, nahe 25, knapp neben 27, nach dem Ackern gepruft	„ „	*****	6,7	*	„ „	1930	***
29. abc	Zwischen III u. IV, westl. der Straße von I nach VIII	„ „	*****	6,8	0	„ „	nach 1925	**0
30. abcde	Feld nahe 29, gegen III	L.-S.-Kies	*****	6,9	**	„ „	„ 1925	00000
31. abc	Feld nahe 30, gegen III	„	*****	7,5	***	„ „	„ 1925	000
32. abcde	Gegen III, Feld nahe 31	Lehm-Sand	*****	7 7 7,3	0	„ „	„ 1925	000?*
33. abc	Acker III, nahe 32	„ „	*****	6,7 6,8	0	„ „	„ 1925	**0
34. abcd	Feld nahe 33, Acker III	Lehm-(Sand)	*****	7 6,9 6,9	0—*	„ „	„ 1925	****
35. abcdef	Acker III, Feld n. 34, eben erst umgeack.	„ „	*****	7,3 7,4 7,5	*	„ „	1932	**0000

Abb. 3 gibt in schematischer Darstellung eines der genauest untersuchten Gebiete wieder, das an der Straße Weiden—Podersdorf liegt (vgl. die Gesamtkarte des Gebietes, Abb. 1). Die mit römischen Ziffern bezeichneten Örtlichkeiten sind nach der Legende zu Abb. 1 zu erkennen. Die den einzelnen arabischen Ziffern, die die Lage der einzelnen Proben bezeichnen, beigesetzten Zeichen „+“ oder „0“ bezeichnen je eine positive oder negative Probe.

Von den noch die natürliche Vegetation tragenden Teilen — durch Schraffierung bezeichnet — sind nur das Molinietum und die untersten, an das Molinietum angrenzenden Teile des Cynodontetums azotobakterführend, nicht aber das Festucetum pseudovinae und die höheren Teile des Cynodontetums.

Von den in Ackerland umgewandelten Teilen enthält alles, was dem Molinietum und dem Cynodontetum — samt der Grenzzone gegen das Festucetum — angehört, Azotobacter. Die Verhältnisse im Festucetum pseudovinae werden im folgenden beschrieben.

Die Standorte 7 bis 14 liegen sämtlich in den alten Feldern östlich der Straße; schon seit Jahrzehnten steht das Land in Kultur. Nur 7 enthält reichlich Karbonat, die übrigen haben einen Karbonatgehalt unter 1%, soweit sie nicht z. T. vielleicht ganz entkalkt sind. Alle Proben enthalten Azotobacter, so daß mit Sicherheit angenommen werden kann, daß das gesamte weite Gebiet, soweit es alte Äcker trägt, positiv ist.

Unmittelbar daneben — bloß durch die Straße getrennt — liegen bedeutend jüngere erst seit 1925 angelegte Felder, in denen Azotobacter größtenteils fehlt. Die Anordnung der Standorte 15—35 erfolgt in der Richtung Podersdorf—Weiden. Die Standorte 15—17 sind Beispiele für durchweg negative Böden aus der Festuca-Zone zwischen IV und VII. Die Felder reichen alle mit ihrem unteren Ende in das positive Molinietum. 17 stammt aus dem gleichen Feld wie die Proben 8 (Tab. 1) und 3 (Tab. 2), die zeigen, daß diese Felder bis an die Grenze Cynodontetum-Festucetum positiv sind.

Die Untersuchung eines 1928 angelegten Feldes (nahe IV), das ganz isoliert im Festucetum liegt und auch nicht in das oberste Cynodontetum reicht, ergab ein überraschendes Resultat. (Siehe Abb. 3.) Die beiden Enden des Feldes (18 und 23) sind negativ; die Mitte des Feldes scheint durchweg Azotobacter zu enthalten (21). Gegen das obere und das untere Ende zu tritt Azotobacter nur vereinzelt in Parallelproben auf (19, 20, 22). Die Ursache dieser ganz seltsamen Verteilung von Azotobacter ist ungeklärt. Eindeutige Beziehungen zu p_H und Karbonatgehalt ließen sich nicht aufzeigen. Für 18 und 23 einerseits, 19, 20 und 22 andererseits scheint eine Beziehung zwischen p_H und Vorkommen bzw. Fehlen von Azotobacter vorhanden zu sein. Standort 21 aber ordnet sich nicht ein; allerdings wurde 21 viel früher eingesammelt als die übrigen Proben, als das Feld noch nicht umgeackert war. Da der Untergrund reicher an Kalk ist als die obersten Schichten kommt beim Pflügen der karbonatreichere Boden nach oben. Dies könnte vielleicht die Differenzen erklären.

Gleichfalls sehr interessant sind die Ergebnisse der Untersuchung zweier weiterer nebeneinander liegender Felder von gleichem Alter (1930). Vor dem Ackern waren die Proben aus der Festuca-Zone durchweg negativ (24, 25, 26 vom 19. Sept., 3. Okt. und 15. Okt. 1932). Nach dem Pflügen dagegen findet sich Azotobacter (27, 28 vom 1. Nov. und 4. Dez. 1932). Im p_H und im Kalkgehalt der Proben war kein Unterschied

zu konstatieren. Auch bei den vor dem Pflügen entnommenen Proben wurden auch die tiefen Bodenschichten berücksichtigt, so daß die Erklärungsmöglichkeit, daß bei den ersten 3 Bodenproben die tieferen vielleicht positiven Schichten, die beim Pflügen nach oben kamen, nicht berücksichtigt wurden, ausgeschlossen ist. Durch das Pflügen werden die verschiedenen Zonen durch die dem Pflug anhaftenden Erdpartikelchen miteinander etwas vermischt, und es ist wahrscheinlich, daß die Infektion mit Azotobacter dabei immer weiter nach oben fortschreitet. Daß in diesen Resultaten nur jahreszeitliche Unterschiede im Azotobacter-Gehalt zum Ausdruck kommen, ist ganz unwahrscheinlich, da die Zwischenzeit, in die das Pflügen fällt, nur 2 Wochen beträgt und die Unterschiede in den klimatischen Bedingungen (Regenmenge bzw. Bodenfeuchtigkeit) für die 3 negativen Proben untereinander weit größer sind als zwischen der negativen am 15. Okt. entnommenen Probe und der positiven vom 1. Nov.

Die folgenden Proben stammen alle aus Feldern, die gleichfalls erst nach 1925, z. T. nach 1928 angelegt wurden. Am Standort 29 — den Standorten 24—28 benachbart liegend — sind von 3 Proben 2 positiv. Die anschließenden Felder (30, 31) sind negativ. In der weiteren Felderreihe aber findet sich Azotobacter wieder. Standort 32 (000 +), 33 (++ 0), an Standort 34 findet sich bereits in allen Proben Azotobacter. Die Standorte 32, 33 und 34 wurden etwas früher angelegt, als 29, 30 und 31. Standort 35 ist ein erst im Herbst 1932 umgeackerter Bodenstreifen, der mit dem oberen Ende ebenso wie 32, 33 und 34 nur mehr in die unteren Teile der Festuca-Zone reicht. Auffallenderweise waren auch von diesem erst umgeackerten Streifen zwei der sechs Proben positiv, wenn auch das Wachstum nur minimal war. Wahrscheinlich handelt es sich wie bei 27 und 28 um einen Fall direkter Infektion beim Pflügen. Auch an den Standorten 29 bis 34 ist das Auftreten oder Fehlen von Azotobacter nicht zufällig, wie die Abstufungen im Azotobacter-Gehalt in Abhängigkeit von der Lage des Feldes zeigen. (Siehe Abb. 3.) Beziehungen zum p_H sind nicht erkennbar.

Wenn also wiederholt zu konstatieren war, daß negative und positive Proben von nahe beisammen liegenden Standorten keine eindeutigen Beziehungen zum p_H aufwiesen, so zeigt der Vergleich aller Proben aus dem Festucetum, daß der durchschnittliche p_H-Wert der positiven Proben höher ist als der der negativen. Besonders deutlich wird dies bei der Gegenüberstellung der positiven alten Felder (7—9, 12—14) und der negativen benachbart liegenden jüngeren (15—17, 23—25), die auch alle in streng vergleichbarer Höhe liegen. Was für das p_H gilt, gilt auch für den Karbonatgehalt des Bodens. Durchschnittlich sind die Azotobacter führenden Böden karbonatreicher als die negativen; im einzelnen aber gibt es manche Ausnahme.

4. Felder und Weingärten in der Zone der Sandgesellschaften. (Tab. 4.)

Nahe dem Ostufer des Neusiedlersees liegt eine Bodenwelle von wenigen Metern Höhe von rein sandiger, z. T. auch kiesig-sandiger Bodenbeschaffenheit, der sog. „Damm". In den höchsten Teilen, am Rücken des Dammes, finden sich auf meist humusarmen Böden verschiedene Sandgesellschaften, deren wichtigste das Potentilletum arenariae ist. Nach unten zu schließt am Dammhang meist das Cynodontetum an.

Tabelle 4.

Karbonatreaktion: ***

	Standort	Boden	Humus	pH	Zone	Alter	Azotobacter
1. ab	Südlich VIII, Damm, Weingarten . . .	Sand-Kies	***	8,1	Sandgesellschaften	alt	**
2. ab	Derselbe Weingarten in der Nähe . . .	,, ,,	***	7,6 7,5	,,	,,	* 0(?)
3. abc	Derselbe Weingarten, nahe 2	,, ,,	***	—	,,	,,	***
4. abcde	Weingarten, Nordrand von X	Sand	***	7,8 7,9 8	Grenze Sandges.-Cynod.	,,	*****
5. ab	In der Nähe von 4	,,	***	7,9 8,1	,, ,, ,,	,,	**
6. abc	In der Nähe von 5, mehr westlich . .	,,	****	7,7 7,7	,, ,, ,,	,,	***
7. ab	Weingarten XI, Nordende, Dammrücken	Sand-Kies	***	7,3 7,6	Sandgesellschaften	1904	**
8. abcd	Weingarten XI, etwas südlich von 7 . .	,, ,,	**	7,5 7,7 7,6 8,2	,,	1904	***
9. abc	Weingarten XI, südl. von 8, Dammrück.	,, ,,	**	7,8 8,1	,,	1904	***
10. ab	Weingarten XI, Nähe von 9, etwas höher	,, ,,	**	7,9 8,3	,,	1904	00
11. abc	Weingarten XI, nahe 9, in gleicher Höhe	,, ,,	***	7,7	,,	1904	***
12. abc	Nahe 11, etwas höher	,, ,,	***	7,8	,,	1904	***
13. abc	Nahe 12, XI Dammhang gegen Westen	,, ,,	**	7,8	,,	1904	*00
14. ab	Weingarten XI, südl. von 11, Dammrück.	,, ,,	**	7,7	,,	1904	*?
15. abc	Weingarten XI, südlich 14	,, ,,	**	7,7	,,	1904	***
16. abcd	Weingarten XI, nahe 15	,, ,,	**	7,7	,,	1904	****
17. abcd	Weingarten XI, nahe 16, etwas höher .	,, ,,	**	7,9 8,1	,,	1904	**00
18. abc	XV, am Damm, derselbe Weingarten wie 22 (Tab. 2)	Sand	***	7,5 7,7 8.1	,,	1928	000
19. ab	XV, derselbe Weingarten nahe 18 . . .	,,	**	—	,,	1928	**
20. ab	XV, dieser Weingarten nahe 19	,,	**	—	,,	1928	00
21. ab	XV, dieser Weingarten, andere Stelle . .	,,	**	—	,,	1928	00
22. ab	XV, jüngerer Weingarten in der Nähe .	,,	**	—	,,	1930	00
23. ab	Acker XV, dasselbe Feld wie 6 und 22 (Tab. 1), Dammrücken	,,	***	7,7 8,1	,,	1930	00
24. ab	Zwischen VI u. VIII, derselbe Weingarten wie 2 (Tab. 1), Dammrücken . . .	Kies-Sand	***	7,4 7,6	,,	nach 1925	00
25. abc	In der Nähe dasselbe Feld wie 20 (Tab. 2), Dammrücken	Sand	***	7,3 7,7	,,	nach 1923	000
26. ab	Zwischen II u. VI, dasselbe Feld wie 21 (Tab. 1), Dammrücken	,,	***	7,3 7,7	,,	alt (?)	00
27. abc	Zwischen II u. VI, südlich 26, Dammrükken, am Rand des Feldes	Kies-Sand (Lehm)	***	7,7	Grenze Sandges.-Cynod.	nach 1920	000
28. abc	Dasselbe Feld 6 Schritte vom Rand, gleiche Höhe wie 27	Lehm-Sand	*****	7,7	Oberes Cynodontetum	nach 1920	***

Für den Anbau von Getreide und Hackfrüchten sind diese lockeren und leicht beweglichen Sandböden kaum geeignet, dagegen gedeiht hier der Weinstock sehr gut. Die untersuchten Proben stammen daher meist aus Weingärten am Damm.

Der Boden ist im Vergleich zu den lehmigen Böden anderer Zonen arm an Humussubstanzen, dagegen reich an Karbonat; er reagiert schwach alkalisch, 7,3—8,3; die meisten Werte liegen im Bereich von 7,5—8.

Besonders eingehend wurden die Weingärten südlich von Podersdorf untersucht. Standorte 1, 2 und 3 liegen am Dammrücken; 4, 5 und 6 nördlich X an einer sehr breiten Stelle des Dammes in einer Höhe von etwa 100—150 cm über dem Grundwasserspiegel. Überall ist Azotobacter vorhanden. Aus einem sehr großen Weingarten am Damm, der vor etwa 30 Jahren angelegt wurde, stammen die Proben 7—17, die gleichfalls fast alle Azotobacter enthalten; einzelne sind negativ. Die tiefsten Teile dieses Weingartens (Tab. 1, 24, 25) aus der Grenzzone Plantaginetum-Cynodontetum sind positiv; die nach oben anschließenden Teile ebenfalls. Negative Proben (neben positiven!) fanden sich nur in jenen hochliegenden Teilen, die zugleich auch von den natürlicherweise positiven am weitesten entfernt und durch einen Fahrweg getrennt liegen.

Durchweg negativ sind ein 1928 und ein erst 1930 angelegter Weingarten am Damm (18—22); beide reichen nicht in die tieferen positiven Zonen. Auch ein in der Nähe liegendes Feld (23) (1928 angelegt) ist in seinen höchsten Teilen negativ, während tiefer Azotobacter vorhanden ist (6, Tab. 1). Gleichfalls negativ ist der am Dammrücken liegende höchste Teil eines jungen (nach 1925 angelegten) Weingartens (24), der ins positive Plantaginetum reicht (2, Tab. 1). Ganz entsprechend verhält sich ein benachbart liegendes Feld, das weder am Dammrücken (25), noch am Hang (in der Cynodon-Zone) (20, Tab. 2) auf stark sandigem Boden positiv ist, obwohl es in die Molinia-Zone reicht (7, Tab 1). Standort 26 ist ein weiteres Beispiel für das Fehlen von Azotobacter in einem schon 10 Jahre alten Feld am Damm. Aufschlußreich ist der Vergleich von 27 und 28, die beide aus dem gleichen Feld in nächster Nähe von 26 stammen. Standort 27 am Ende des Feldes gehört wie 26 dem Damm an (Grenzzone gegen das Cynodontetum). Neben Kies und Sand treten auch die feineren lehmigen Bestandteile bereits etwas hervor. Von 3 Proben enthält nur eine Azotobacter. Der „Damm“ fällt an dieser Stelle nur auf einer Seite (gegen den See) ab, auf der anderen Seite liegt das angrenzende Terrain in der gleichen Höhe. Standort 28 liegt von 27 nur 4—5 m entfernt und in genau der gleichen Höhe. Der Boden ist stark humos und deutlich lehmig. Im Karbonatgehalt und p_H ist kein Unterschied. Alle 3 Proben enthalten Azotobacter. Das Feld ist bereits über 10 Jahre alt, so daß die Möglichkeit einer Infektion — besonders auf so geringe Distanz — durch das oftmalige Pflügen sicher gegeben war. Im sandigen humus- und nährstoffarmen Boden aber sind die Bedingungen für das Fortkommen von Azotobacter sehr schlecht.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Insgesamt wurden von 119 Standorten 315 Bodenproben untersucht. 69 (30) aus den natürlicherweise positiven Zonen des Molinietum, Plantaginetum und des unteren Cynodontetum, 72 (26) aus

der Zone des mittleren und hohen Cynodontetum, 98 (35) aus der Festuca pseudovina-Zone und 76 (28) von Böden, die ursprünglich Sandgesellschaften trugen.

Während die Bodenproben der ersten Gruppe — wie zu erwarten — stets positiv waren, waren 22% der Proben aus der Cynodon-Zone, 42% aus der Festuca-Zone und 40% aus der Zone der Sandgesellschaften negativ. Das Verhältnis der negativen Proben von Cynodon- und Festuca-Zone, drückt sehr gut aus, daß das Eindringen von Azotobacter in die höher liegende Festuca-Zone langsamer erfolgt als in die tieferliegende Cynodon-Stufe. Daß von den Proben aus der Zone der Sandgesellschaften der verhältnismäßig hohe Anteil von 60% Azotobacter enthält, ist nur aus dem Überwiegen alt angelegter Felder zu erklären.

Berücksichtigt man nur die nicht über 10 Jahre alten Felder, so wird der Gang der Besiedlung durch Azotobacter in den verschiedenen Zonen viel besser wiedergegeben: Während aus der Cynodon-Zone 62% positiv sind, sind es aus der Festuca-Zone 45% und aus der Zone der Sandgesellschaften nur 4%!

Auch in den Sandböden kommt es regelmäßig zu einer Durchdringung mit Azotobacter. Die für diesen Organismus notwendigen Lebensbedingungen stellen sich aber in den sandigen, verhältnismäßig humusarmen Böden viel langsamer und schwieriger als in den lehmigen, wenn auch karbonatarmen, Böden der Festuca-Zone ein. Wahrscheinlich spielt die bodenverbessernde Düngung mit Stallmist eine ausschlaggebende Rolle.

Die Stärke der Azotobacterentwicklung in den Rohkulturen variiert manchmal auch innerhalb der Einzelproben von einem anscheinend durchaus homogenen Standort sehr stark — eine Erfahrung, die auch bei der Untersuchung der natürlichen Pflanzenbestände gemacht wurde.

Berücksichtigt man aber den Durchschnitt, so ergeben sich recht interessante Erkenntnisse.

Die folgende Zusammenstellung zeigt — in Prozent ausgedrückt — die verschieden starke Azotobacterentwicklung der den 4 Zonen angehörigen Proben.

	Starke Decke	Mittelstarke Decke	Dünne Decke	Sehr dünne Decke	Azotobacter am Rand des Kolbens einen Ring bildend	Diffuses Wachstum
1. Positive Zonen	**32**	21	**33**	3	7	4
2. Cynodon-Zone	**29**	20	**22**	4	7	18
3. Festuca-Zone	18	**23**	**20**	18	12	9
4. Zone d. Sandgesellschaften	5	9	**40**	12	16	**19**

Böden aus den tiefliegenden Zonen (1) weisen auch den größten Prozentsatz gut entwickelter („starke" + „mittelstarke") Decken von Azotobacter auf: 53%. Geringer schon ist der Anteil bei den Proben aus der Cynodon-Zone (49%) und aus der Festuca-Zone (41%). Erst in weitem Abstand folgen die Sandgesellschaften mit einem Anteil von 14% gut entwickelter Azotobacterdecken.

Die folgende Zusammenstellung von p_H-Werten aus Feldern und knapp danebenliegenden streng vergleichbaren Standorten aus den natürlichen Pflanzenbeständen zeigt fast durchweg eine sehr gute Übereinstimmung der Werte, was auch für die Brauchbarkeit der kolorimetrischen Methode spricht. Unterschiede von 0,1—0,2 Einheiten sind zwanglos auf Verschiedenheiten des Bodens zurückzuführen:

Bezeichnung des Feldes		p_H	p_H der angrenzenden Pflanzengesellschaften
		Cynodon-Zone	
Tab. 2	1	7,5	7,7 7,7
	3	7,3 7,4	7,3 7,4
	19	8,1 8,1	7,8 7,9
	20	7,5	7,5
	21	7,8 8,1	7,8 7,8 7,9 8,1
		Festuca pseudovina-Zone	
Tab. 3	5	7,4 7,5 7,5 7,6	7,4 7,5 7,5 7,6 7,6
	7	7,3 7,3 7,4	7,1 7,3 7,4
	12	7,6	7,4 7,6
	15	6,8 6,8	6,6 6,6 6,6 6,6 6,7
	28	6,7	6,6 6,8 6,9
	34	6,9 6,9 7	6,9 6,9 7 7
		Zone der Sandgesellschaften	
Tab. 4	2	7,5 7,6	7,5 7,6
	4	7,8 7,9 8 8	7,5 7,5 7,7 7,9 7,9
	5	7,9 8,1	7,5 7,6 (!)
	16	7,7	7,8
	26	7,3 7,7	7,3
	27	7,7	7,6 7,7

Schon in Teil I dieser Studien wurde darauf hingewiesen, daß Böden mit einem für Azotobacter optimalen p_H durchweg negativ sein können. Zum gleichen Ergebnis führt auch das hier mitgeteilte Untersuchungsmaterial. Besonders sandige Böden, deren p_H zwischen 7 und 8 liegt, sind vielfach negativ, desgleichen auch lehmige Böden aus dem Festucetum pseudovinae, mit einem p_H von 6,5—7.

Bei einseitiger Auswahl der Böden wäre es sehr leicht möglich, für einen p_H-Bereich, der sonst allgemein als optimal angesehen wird, durchweg negative Resultate bei der Untersuchung auf Azotobacter zu erhalten.

Die Frage nach den Faktoren, die eine Besiedelung ursprünglich negativer Zonen ermöglichen, bzw. die Frage welche Eigenschaften der natürlichen Böden es sind, die eine Änderung erfahren müssen, damit die Bedingungen für das Fortkommen von Azotobacter gegeben sind, kann nur zum Teil beantwortet werden; nur eine ganz gründliche, umfassende Untersuchung der chemisch-physikalischen und der biologischen (mikrobiologischen) Eigenschaften der Böden könnte eine letzte Antwort ermöglichen.

Sicher ist, daß in den Sandgesellschaften und in der Festuca-Zone gänzlich verschiedene Faktoren ausschlaggebend sind. Im Festucetum scheint die Veränderung der physikalischen Eigenschaften des Bodens von größter Bedeutung zu sein, wie schon in Teil I angedeutet wurde. Die Lockerung des nach Trockenperioden steinharten Bodens und die damit verbundene grundlegende Veränderung in der Wasserführung und in der Durch-

lüftung dürften ausschlaggebend sein. Soweit es sich um kalkarme Stellen im höchsten Festucetum handelt, mag auch die Verbesserung des Kalkzustandes durch das Tiefackern mitspielen. In den Sandböden dürfte dagegen die Düngung bzw. die Durchmischung mit lehmigem, nährstoffreicherem Boden von größter Bedeutung sein. Trotz wiederholter Infektion, die durch das Pflügen an vielen Stellen sicher gegeben ist, kann Azotobacter in Sandböden nur langsam eindringen. Für die lehmigen Böden kann der Beweis als erbracht gelten, daß die Infektion durch das Pflügen erfolgt.

Mein Chef, Herr Professor Dr. F. C. v. Faber stellte mir für die Ausführung der Arbeit die Mittel des Institutes zur Verfügung. Ich möchte ihm dafür meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung.

1. In Parallele zu den natürlichen Pflanzengesellschaften wurde auch das Kulturland im Gebiet östlich vom Neusiedlersee auf das Vorkommen von Azotobacter untersucht.

2. Äcker und Weingärten, die vor mindestens 20—30 Jahren angelegt wurden, enthalten durchweg Azotobacter, ohne Rücksicht auf Höhenlage, Humusgehalt, Kalkgehalt und p_H.

3. Die erst in den letzten Jahren angelegten Felder und Weingärten enthalten nur zum Teil Azotobacter.

4. In die lehmigen, humusreichen, wenn auch kalkarmen Böden der hochliegenden Festucetum-Zone dringt Azotobacter bedeutend leichter ein als in die humus- und nährstoffarmen Sandböden, die von verschiedenen Sandgesellschaften besiedelt waren.

5. In den lehmigen Böden der Festucetum-Zone ist die durch die Bodenbearbeitung bedingte Lockerung und die dadurch verbesserte Wasserführung, in den Sandböden die Verbesserung der Bodeneigenschaften durch Düngung ausschlaggebend.

6. Die Infektion der negativen Böden ist in erster Linie durch die Beackerung gegeben.

Literaturverzeichnis.

Bojko, H., Ein Beitrag zur Ökologie von Cynodon dactylon Pers. und Astragalus exscapus L. (Sitzber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. I. Bd. 140. 1931. S. 675. — Bojko, H., (a) Über die Pflanzengesellschaften im burgenländischen Gebiet östlich vom Neusiedlersee. (Burgenländische Heimatblätter. I. 1932. S. 43.) — Bojko, H., (b) Über eine Cynodon dactylon-Assoziation aus der Umgebung des Neusiedlersees. (Beih. z. Bot. Centralbl., II. Abt. Bd. 50. 1932. S. 207.) — Bojko, H., (c) Zur pflanzensoziologischen Karte des Seewinkels. (Noch nicht veröffentlicht.) — Pozdena, L., Beiträge zur Kenntnis der Salzböden. (Chemie der Erde. Bd. 7. 1932. S. 441.) — Till, A., Erläuterungen zu den Gemeindebodenkarten des Burgenlandes 1930. (Die Bodenkarten liegen an der Lehrkanzel für Bodenkunde der Hochschule für Bodenkultur auf.) — Wenzl, H., Bodenbakteriologische Untersuchungen auf pflanzensoziologischer Grundlage. I. Im Erscheinen. (Beih. z. Bot. Centralbl. I. Abt. Bd. 52. 1934.)

The Chemistry of Mold Tissue. III. Composition of Certain Molds with Special Reference to the Lipid Content[1].

[From the Departments of Agricultural Chemistry and Agricultural Bacteriology, University of Wisconsin, Madison.]

By **L. M. Pruess, E. C. Eichinger** and **W. H. Peterson.**

With 2 figures in the Text.

Because of their rapid growth under conditions which permit fairly accurate control, and because of the large weight of cellular material obtained, the common molds are particularly suitable for a study of the factors involved in the conversion of carbohydrate to lipid.

The lipid content of mold spores is reported to vary from about 1 to 14 per cent (6, 19) and that of the mycelium ranges from 1 to 40 per cent depending upon the species (9) and upon other factors such as the period of incubation (3, 15), the carbohydrate content of the medium (3, 4, 20) the presence in the medium of small amounts of zinc, manganese or copper (11, 16), the degree of acidity of the medium, and the kind of nitrogen in the medium (15). Pontillon (15) demonstrated that the last two factors influence not only the quantity of lipid formed, but also its quality as shown by the variations in melting points, molecular weights, and iodine numbers of the fatty acids, and the content of unsaponifiable matter and phospholipid. Likewise, it has been shown that the temperature of incubation influences the degree of unsaturation of mold fatty acids. Pearson and Raper (12) demonstrated that the iodine numbers of the fatty acids obtained from A. niger and Rhizopus nigricans decreased as the temperature at which these molds were grown was increased. Terroine and his associates (21) confirmed these results using A. niger.

Investigators (1, 2, 5, 18) who have characterized mold lipids find various fatty acids in the molds examined: caproic, caprylic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, an acid appearing to be elaidic, and by X-ray analysis, an acid containing 19 carbon atoms. Zellner (22) states that the crude fats of higher fungi contain, in a majority of cases, very little neutral fat but much free fatty acid.

The mold lipids have been generally regarded as reserve materials (13). Kordes (8), however, concluded that while the fat of fungous spores was utilized during germination, and thus might be looked upon as reserve material, the fat in the hyphae should be considered as an "excretory" product because it was not utilized in metabolism even when no other carbon source was available.

Not much is known concerning the manner in which mold lipids are synthesized, but Barber (2) found that the same fatty acid mixtures were formed by a Penicillium sp. whether this mold was grown on glucose, sucrose, xylose or glycerol. Because of this constancy of the lipids, he believed that the same intermediate product is formed from all the various

[1]) This work was supported in part by a grant from the Wisconsin Alumni Research Foundation.

carbon compounds, and that the fat is not synthesized by a simple condensation of monosaccharides.

In a previous publication (17) a survey of the growth and sterol content of seventy-six molds was reported. Many of these molds, since that time have been analysed for their lipid and nitrogen contents. The results of these analyses, together with some additional data, are presented in this paper.

Experimental.

The mycelia obtained in the earlier experiments and used in the work reported here were grown on both synthetic (glucose-inorganic salts) and organic (glucose-malt sprouts) media. The composition of these media and the fermentation procedure used were described in detail in the publication (17) mentioned above. From that report have been taken the data for the weight and sterol content of the dry mycelia given in Tables II and III of this paper.

Analytical Methods. Although it is probable that no one solvent or procedure is best for the extraction of lipids from all samples of mold tissue, a preliminary study of two samples of mycelium indicated that isopropyl ether was a suitable extraction agent. A comparison of the solvent action of several reagents is given in Table I. Ethyl ether extracted the least amount of lipid. Alcohol and acetone removed appreciable amounts of non-lipid materials. Chloroform was eliminated because it extracted higher alcohols and waxes. Isopropyl ether was finally chosen for the following reasons: (1) it is inexpensive; (2) it extracted maximal quantities of true fatty material, i. e. material soluble in ethyl ether; (3) the fat it extracted was cleanest in appearance, with the exception of that extracted by ethyl ether.

Table I. Quantity of Material Extracted from A. Fischeri by Certain Solvents.

Solvent	Mycelium No. 9	Mycelium No. 16
	Lipid per cent	Lipid per cent
Acetone	15.6	11.4
Alcohol	18.0	—
Chloroform	14.9	10.1
Ethyl ether	12.6	—
Isopropyl ether	13.3	9.7

The lipid content of the molds was determined by extracting two-gram samples of the dried, finely ground mycelium for a period of 18 hours, usually overnight, in a Caldwell extraction apparatus, evaporating the solvent, and drying the residue to constant weight at 95° C.

Total nitrogen was determined by the modified Kjeldahl method (7), and crude protein calculated by means of the usual factor, 6.25.

The difference between 100 and the sum of the lipid and protein figures is expressed as carbohydrate and ash. The ash content of molds grown on the synthetic medium ranged from 2.5 to 8.5 per cent, and on the organic medium the figure varied from 1.0 to 4.5 per cent. Since the values given in the tables include ash, a closer approach to the carbohydrate content

may be obtained by subtracting 5 per cent from the figures given in Table II and 3 per cent from those given in Table III. However, for purposes of comparison it is not necessary to make these subtractions.

Table II. Composition of Certain Molds (Glucose-inorganic salts medium).

Organism	Weight of dry pad	Sterol	Lipid	Crude protein (N × 6.25)	Carbo-hydrate (by difference)[1]	Free fatty acid of lipid (as oleic)
	g/100 cc.	per cent	per cent	per cent	per cent	per cent
A. aerea 4700A 32	2.67	0.65	4.7	34.4	60.9	—
,, carbonarius 4030.1	4.04	0.39	1.1	13.7	85.2	56.3
,, cinnamomeus 3534B	3.63	0.42	3.4	25.0	71.6	—
,, citrosporus 4301.10	3.53	0.45	3.9	32.5	63.6	—
,, clavatus 107	2.03	0.75	7.6	35.0	57.4	20.0
,, fischeri 5041	2.62	0.90	6.4	31.2	62.4	15.2
,, flavipes 2	2.81	0.75	7.0	36.3	57.7	8.0
,, fumigatus 2	3.13	0.82	3.1	31.2	65.7	51.5
,, fuscus 3534c	2.81	0.93	3.0	28.1	68.9	30.2
,, insuetus 4658.245	2.52	1.10	13.5	23.7	62.8	13.4
,, lutea 4640.473	2.62	0.65	3.8	36.7	59.5	—
,, melleus 4291.6	1.98	0.88	3.1	40.6	56.3	44.9
,, minutus 4894.2	2.33	0.52	7.4	32.5	60.1	27.4
,, nidulans 1	3.45	0.55	19.9	25.6	54.5	9.7
,, niger 2	3.14	0.80	2.6	28.1	69.3	—
,, ochraceous 4700A	2.21	0.61	4.5	43.1	52.4	19.7
,, oryzae 965	1.17	0.84	5.0	33.7	61.3	19.5
,, schiemanni 3534c	2.39	0.78	4.1	32.5	63.4	34.2
,, sydowi 1	2.02	1.09	5.0	26.9	68.1	8.4
P. aurantio-brunneum 4733.5	1.72	0.87	11.8	23.7	64.5	17.6
,, chrysogenum 4733.33	1.66	0.91	2.3	43.7	54.0	67.8
,, cyaneum 4640.422	0.75	0.59	2.4	33.1	64.5	—
,, cyaneo-fulvum 4733.47	1.06	0.40	3.2	36.3	60.5	39.4
Paecilomyces varioti 1	1.64	1.25	14.9	30.0	55.1	14.8
Average:	2.41	0.75	6.0	31.6	62.5	27.6

[1]) Includes ash; this varies from 2.5 to 8.5 per cent.

Lipid Content of Various Molds.

Table II presents the lipid content of the molds grown on a glucose-inorganic salts medium containing an excess of $CaCO_3$, and shows great differences among various species. The lipid content of these molds ranged from 1.1 to 19.9 per cent, with an average of 6.0 per cent. Eight molds showed a lipid content greater than the average, and of these, four were especially high.

Table III shows the percentage of lipid contained in the mycelium when the same molds were grown on a glucose-malt sprouts medium. On this medium the lipid content varied from 1.5 to 24.4 per cent, average 8.8.

A comparison of the two tables shows that the average percentage of lipid in the molds grown on the organic medium is almost 50 per cent higher than that of the same molds when grown on the synthetic medium. A. clavatus, A. fischeri, A. flavipes, A. insuetus, and A. minutus produced about two to three times as much lipid on

the organic medium as was produced on the synthetic. However, several molds, namely, A. citrosporus, A. fumigatus, A. nidulans, and Paecilomyces varioti had a higher lipid content on the synthetic medium than on the organic. Eight molds showing a greater than average lipid content when grown on the synthetic medium showed also, when grown on the organic medium, percentages above the average.

Table III. Composition of Certain Molds (Glucose-malt sprouts medium).

Organism	Weight of dry pad	Sterol	Lipid	Crude protein (N × 6.25)	Carbohydrate (by difference)[1]	Free fatty acid of lipid (as oleic)
	g/100 cc.	per cent	per cent	per cent	per cent	per cent
A. aerea 4700A 32	2.55	0.88	6.1	25.6	68.3	—
„ carbonarius 4030.1	5.03	0.33	2.1	12.5	85.4	—
„ cinnamomeus 3534B	4.16	0.54	5.0	14.4	80.6	—
„ citrosporus 4301.10	2.59	0.57	1.5	25.6	72.9	—
„ clavatus 107	2.77	0.86	16.6	22.5	60.9	—
„ fischeri 5041	2.40	0.84	13.4	28.1	58.5	8.3
„ flavipes 2	2.53	0.77	23.0	21.2	55.8	—
„ fumigatus 2	2.63	0.26	1.8	24.4	73.8	73.1
„ fuscus 3534c	3.94	0.48	5.7	18.1	76.2	16.9
„ insuetus 4658.245	2.32	1.05	24.4	21.9	53.7	15.0
„ lutea 4640.473	2.41	0.45	4.8	26.2	69.0	—
„ melleus 4291.6	2.55	0.95	3.8	23.7	72.5	36.2
„ minutus 4894.2	2.56	1.10	18.3	23.7	58.0	10.6
„ nidulans 1	4.16	0.38	16.8	13.1	70.1	7.9
„ niger 2	3.87	0.43	2.8	18.1	79.1	—
„ ochraceous 4700A	2.98	0.44	5.2	21.9	72.9	24.3
„ oryzae 965	1.45	1.09	5.6	36.3	58.1	19.9
„ schiemanni 3534c	3.47	0.81	5.2	18.1	76.7	38.5
„ sydowi 1	2.53	0.86	5.2	20.6	74.2	8.0
P. aurantio-brunneum 4733.5	2.21	0.77	12.9	20.6	66.5	10.7
„ chrysogenum 4733.33	1.87	1.16	7.1	15.0	77.9	30.4
„ cyaneum 4640.422	1.82	0.70	4.4	20.6	75.0	—
„ cyaneo-fulvum 4733.47	1.71	0.38	8.2	21.9	69.9	41.2
Paecilomyces varioti 1	1.48	1.70	10.1	26.9	63.0	27.4
Average:	2.92	0.78	8.8	22.5	69.6	26.2

[1]) Includes ash; this varied from 1.0 to 4.5 per cent.

The fatty material extracted from the tissue always contained some free acid, and in some cases a very large percentage. The free fatty acid content of the mold lipids was found to vary from 7.9 to 73.1 per cent, calculated as oleic acid. In general, the percentage of free fatty acid was high in those cases where the percentage of extracted lipid was low. The average percentage of free fatty acid was practically the same for the two types of media.

Some additional data regarding the nature of the lipid was obtained in the case of one of the molds, A. sydowi. From 5 kilos of dried mycelium 0.6 kilos of crude lipid was extracted with a mixture of equal parts of alcohol and ether.

The crude lipid was a dark, reddish-brown oil, which still remained liquid at — 10° C. It had an iodine number of 114, a saponification num-

ber of 172, and an acid number of 43. It contained 7.4 per cent unsaponifiable matter, 81 per cent fatty acids, 0.3 per cent phosphorus, 0.4 per cent nitrogen, and no ash. A more detailed report of the nature of this lipid will be given later.

Relation Between Lipid, Protein, Sterol and Carbohydrate Contents of Various Molds.

Data in Tables II and III indicate that there is no correlation between the sterol content of the molds and their protein, lipid, or carbohydrate contents. Massengale, Bills, and Prickett (10) showed that the ergosterol content of a strain of Saccharomyces cerevisiae likewise bore no relation to the fat or protein content, but was influenced by the nature of the carbohydrate supplied in the medium.

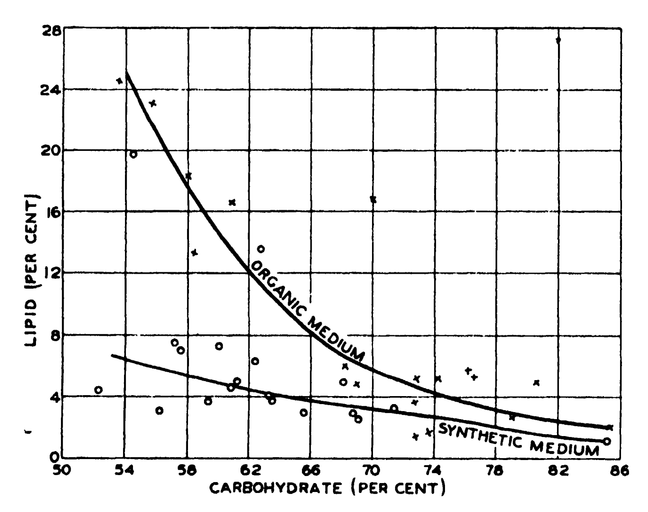


Fig. 1. Relation between lipid and carbohydrate content of mold mycelium.

A comparison of the two tables shows that the percentages of lipid and carbohydrate in the molds grown on the organic medium are generally higher than those of the same molds grown on the synthetic medium, and in all but one case the protein content is lower. The relationships between lipid, protein and carbohydrate contents are more clearly indicated by Figures 1 and 2. The graphs are plotted only from the data pertaining to the various species of Aspergilli, hence no genus differences are introduced.

Figure 1 shows that on the synthetic medium the lipid percentages, with two exceptions, are relatively low and approximately constant; there may be a slight trend toward an inverse relation between lipid and carbohydrate, but this is not very appreciable. Because of the uniformity in lipid content, there is a definite inverse relation between the protein and carbohydrate contents, as shown by Figure 2. With a decreasing protein content there is a regular increase in the carbohydrate constituents.

On the organic medium (Figure 1) there is an inverse relation between lipid and carbohydrate, this is most pronounced when the carbohydrate

is less than about 70 per cent. Figure 2 shows that when the carbohydrate content is more than 70 per cent the protein decreases regularly with an increase in carbohydrate; below 70 per cent the results are somewhat irregular, but indicate a relatively uniform protein content or possibly a slight decrease with decreasing carbohydrate percentages.

Lipid Content of Molds Grown in Mass Culture.

Table IV presents the lipid figures for three molds cultured in large quantities in two specially designed sterilizer-incubators (14). In this table figures are also given for the lipid content of the same molds grown on similar media in flasks.

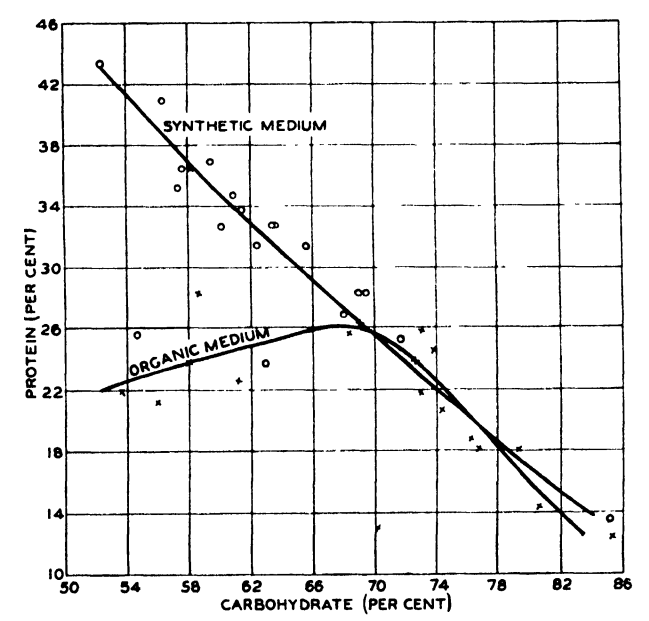


Fig. 2. Relation between protein and carbohydrate content of mold mycelium.

Because of the variation from one run to another in the lipid content, even when the same medium was used, no definite conclusions can be formed regarding the effect of the sugar concentration of the medium on the production of lipid. Possibly the differences in sugar concentration were not large enough to have a noticeable effect.

A. sydowi consistently produced about twice as much lipid as did A. fischeri. The percentage of lipid in the mycelium of A. sydowi was appreciably higher when this mold was grown in mass culture than when it was cultured on the same medium in flasks. In the case of A. fischeri no such difference was apparent, except on the organic medium. On this medium the mold formed more lipid in flasks than in mass culture.

Run 18A and B as well as Run 22A and B show that A. sydowi yielded approximately 3 per cent less lipid in the 10 pan incubator than in the 21 pan incubator. The reasons for this difference are not definitely known, but oxygen supply may have played an important part.

Table IV. Lipid Content of Molds Grown in Mass Culture.

Organism	Run No.	Medium Kind[1])	Medium Sugar per cent	Lipid per cent	Remarks
A. fischeri 5041	12	G. S.	13	7.1	
,, ,, 5041	16	G. S.	15	9.7	} Flask grown, lipid
,, ,, 5041	25	G. S.	15	5.9	} = 5.9 per cent
,, ,, 5041	26	G. S.	12	5.6	
,, ,, 5041	26-B	G. S.[2])	10	6.4	Flask grown, lipid = 6.4 per cent
,, ,, 5041	26-B	G. Sp.	10	8.4	Flask grown, lipid = 13.4 per cent
,, ,, 5041	27	G. S.	12	6.0	
,, ,, 5041	28	G. S.	12	8.5	} Flask grown, lipid
,, ,, 5041	29	G. S.	12	6.7	} = 7.3 per cent
,, ,, 5041	30	G. S.	12	5.5	
,, ,, 5041	31	G. S.	12	6.9	
,, ,, 5041	33	G. Sp.	10	6.8	
A. sydowi 1	18-A	G. S.	15	13.3	10 pan incubator
,, ,, 1	18-B	G. S.	15	16.5	21 ,, ,,
,, ,, 1	19	G. S.	15	13.8	
,, ,, 1	20	G. S.	15	15.5	} Flask grown, lipid
,, ,, 1	21	G. S.	15	21.9	} = 11.4 per cent
,, ,, 1	22-A	G. S.	10	14.3	10 pan incubator
,, ,, 1	22-B	G. S.	10	17.3	21 ,, ,,
,, ,, 1	23	G. S.	10	15.8	} Flask grown, lipid
,, ,, 1	24	G. S.	10	13.6	} 9.4= per cent
,, ,, 1	32	G. S.	12	11.1	
,, ,, 1	35-B	G. Sp.	10	14.5	Flask grown, lipid = 5.2 per cent
P. aurantio-brunneum 4733.5	26-A	G. S.	10	13.8	Flask grown, lipid — 12.1 per cent
,, ,, ,, 4733.5	26-A	G. S.	15	11.8	Flask grown, lipid = 13.2 per cent

[1]) G. S. = Glucose-inorganic salts medium plus KOH to bring the pH to about 6.5. G. Sp. = Glucose-malt sprouts medium.

[2]) G. S. = Glucose-inorganic salts medium plus an excess of $CaCO_3$.

Summary.

The lipid, protein, carbohydrate and sterol contents of 24 molds, grown in flasks on both synthetic and organic media, are reported.

On the synthetic medium the lipid figures varied from 1.1 to 19.9 per cent, average 6.0. The protein contents ranged from 13.7 to 43.7 per cent, average 31.6.

On the organic medium the lipids varied from 1.5 to 24.4 per cent. The average was 8.8 per cent, almost 50 per cent higher than that for the synthetic medium. The protein percentages ranged from 12.5 to 36.3, and averaged 22.5. This average is about 30 per cent lower than the corresponding figure for the synthetic medium. Correlations between lipid, protein, and carbohydrate percentages of 19 Aspergilli are discussed.

The lipids contained considerable free fatty acid. Calculated as oleic, the percentages fluctuated from about 8.0 to 70.0. Other constituents (e. g. phospholipid) are indicated by the presence of phosphorus and nitrogen. Detailed data regarding the composition of the lipid material will be given in a later publication.

In addition to the flask cultures, three molds were grown in mass culture in a specially designed sterilizer-incubator. In this apparatus one of the molds, A. sydowi, formed about 60 per cent more lipid than it did when grown in flasks. Reduced oxygen supply may have been responsible for this increase.

Bibliography.

1. Barber, H. H., Journ. Soc. Chem. Ind. Vol. 46. 1927. p. 2001. — 2. Barber, H. H., Biochem. Journ. Vol. 23. 1929. p. 1158. — 3. Bohlin, P., Bull. soc. chim. biol. Vol. 8. 1926. 1081 and 1120. — 4. Bohn, P. R., Compt. rend. T. 193. 1931. p. 441. — 5. Browne, C. A. Jr., Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 28. 1906. p. 453. — 6. Cramer, E., Arch. Hyg. Bd. 20. 1894. S. 197. — 7. Kjeldahl-Gunning-Arnold, Method. Assoc. Official Agr. Chem., Official and Tentative Methods. (1930) p. 21. — 8. Kordes, H., Botan. Arch. Bd. 3. 1923. S. 282. — 9. Marschall, Arch. Hyg. Bd. 28. 1897. S. 16. — 10. Massengale, O. N., Bills, C. E., and Prickett, P. S., Journ. Biol. Chem. Vol. 94. 1931. p. 213. — 11. McHargue, J. S., and Calfee, R. K., Botan. Gaz. Vol. 91. 1931. p. 183. — 12. Pearson, L. K., and Raper, H. S., Biochem. Journ. Vol. 21. 1927. p. 875. — 13. Perrier, A., Compt. rend. T. 140. 1905. p. 1052. — 14. Peterson, W. H., Pruess, L. M., Gorcica, H. J., and Greene, H. C., Ind. Eng. Chem. Vol. 25. 1933. p. 213. — 15. Pontillon, C., Compt. rend. T. 191. 1930. p. 1148 and 1367. — 16. Porges, N., Botan. Gaz. Vol. 94. 1932. p. 197. — 17. Pruess, L. M., Gorcica, H. J., Greene, H. C., and Peterson, W. H., Biochem. Ztschr. Bd. 246. 1932. S. 401. — 18. Sullivan, M. X., Science. Vol. 38. 1913. p. 678. — 19. Sumi, M., Biochem. Ztschr. Bd. 195. 1928. S. 161. — 20. Terroine, E. F., and Bonnet, R., Bull. Soc. chim. biol. Vol. 9. 1927. p. 588. — 21. Terroine, E. F., Bonnet, R., Kopp, G., and Vechot, J., Bull. soc. chim. biol. Vol. 9. 1927. p. 604. — 22. Zellner, J., Chemie der höheren Pilze. Leipzig (W. Engelmann) 1907.

Über die bakterielle Ursache einer Blattfleckenkrankheit und Fruchtfäule der Gurken in Deutschland.

[Aus dem Laboratorium für Bakteriologie der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 7 Abbildungen im Text.

H. Hülsenberg (1) hat 1929 einen Hinweis gebracht auf das Auftreten einer für Deutschland neuen Blattfleckenkrankheit bei Gurken im Bezirk Halle, „die als eine Bakteriose, die sog. eckige Blattfleckenkrankheit der Gurken, bestimmt wurde".

Im Jahre 1931 berichtete auch H. Kordes (2) über eine solche Blattfleckenkrankheit bei Gurken in der Pfalz (Bezirk Frankenthal), die den Gurken-Anbauern der dortigen Gegend schon seit mehreren Jahren aufgefallen war, sich bisher aber erst zu Ende der Erntezeit der Gurken bemerkbar gemacht und infolgedessen keinen wesentlichen Schaden anzurichten vermocht hatte. Nach den äußeren Symptomen an den Blättern und Früchten und dem mikroskopischen Nachweis von Bakterien in den angegriffenen Gewebepartien schloß auch Kordes, dem die kurze Veröffentlichung Hülsenbergs wahrscheinlich damals unbekannt war, auf die eckige Blattfleckenkrankheit der Gurken.

Ein Jahr später hat schließlich Th. Gante (3) über die gleiche Gurkenkrankheit in der Nähe von Geisenheim am Rhein Mitteilung gemacht[1]).

Dieser Gurkenbakteriose ist erstmalig Erwähnung getan worden von O. F. Burger (4) 1913, der in mehreren kurzen Veröffentlichungen aus Florida auch auf den Erreger einging, der sowohl Blattflecken hervorrufen wie eine Fäule der Gurkenfrüchte bewirken solle, und ihn als ein Stäbchenbakterium beschrieb, das peritrich begeißelt sei, die Milch koaguliere u. a. mehr. Einige Zeit später wurde von G. B. Traverso (5) aus Italien dieselbe Gurkenkrankheit gemeldet, als Ursache aber ein fluoreszierendes, die Gelatine nicht verflüssigendes Stäbchenbakterium angesehen, das jedoch bei Infektionsversuchen versagte. Durch die eingehenden Untersuchungen von E. F. Smith und M. K. Bryan (6) wurde dann der Beweis erbracht, daß ein polar begeißeltes, die Gelatine langsam verflüssigendes, der Gruppe der Fluoreszenten angehörendes Bakterium für die Krankheit verantwortlich zu machen sei. Infolge seiner Eigenschaft, im frühen Krankheitsstadium tränenartige Tröpfchen von Bakterienexsudat an den Krankheitsherden auszuscheiden, nannten es Smith und Bryan Bacterium lachrymans. Da dieses aber sehr wesentliche Verschiedenheiten von dem durch Burger beschriebenen Organismus aufwies, vermuteten Smith und Bryan, daß es sich bei dem Burgerschen Bakterium vielleicht um ein aus Gurkenfrüchten isoliertes und hier eine Naßfäule verursachendes Bakterium handele. A. A. Potebnia (7) will tatsächlich einen solchen Naßfäule-Erreger in Rußland aus Gurken isoliert haben, der mit dem Burgerschen weitgehend übereinstimmte, weshalb er denselben Bacillus Burgeri genannt hat. E. Carsner (8) ist der Meinung, daß das Blattflecken verursachende Bacterium lachrymans nicht direkt die Fruchtfäule hervorrufe, sondern nur die Wunden schaffe, durch die dann Naßfäule-Erreger in das Innere der Früchte Eingang finden könnten. G. K. Burgwitz (9) behauptet dementsprechend an Gurken in Rußland sowohl Bacillus Burgeri wie Bacterium lachrymans gefunden zu haben. G. F. Weber (10), der 5 Jahre lang Beobachtungen und Untersuchungen über die Gurkenbakteriose und ihre Ursache in Florida durchgeführt hat, kommt 1928 aber zu dem Schluß, daß sowohl die Blattfleckenkrankheit als auch die Fruchtfäule von einer und derselben Bakterienart hervorgerufen werden und zwar durch Bact. lachrymans E. F. Sm. et Bry. 36 verschiedene Handelssorten von Gurken wurden von Weber (11) auf ihre Anfälligkeit bzw. Resistenz gegenüber Bact. lachrymans geprüft; es wurde festgestellt, daß alle anfällig waren und dabei nur geringe graduelle Unterschiede zutage traten. Dasselbe Ergebnis hatte Carsner bei 12 Sorten schon früher erhalten.

Im Jahre 1929 beschrieben G. Nicolas und Aggery (12) u. a. eine Blattfleckenkrankheit bei Gurken und Melonen, die im Südwesten Frankreichs bis zu den östlichen Pyrenäen aufgetreten war und gaben als Erreger Bakterien an, die zur Familie der Coccaceen zu stellen wären. Die ovoiden Formen wurden bei der einen Art mit etwa 0,7—0,8 μ Größe angegeben, bei der anderen sollen die Zellen bis 3 μ (!) lang gewesen sein. Vor-

[1]) Hülsenberg sowohl wie Kordes und Gante haben den im Sorauer, 5. Aufl. Bd. 2. 1928. S. 281—282 meinerseits übersehenen Druckfehler übernommen, es muß dort natürlich „Eckige Blattflecken“-Krankheit heißen und nicht „Eckige Blattfleckenkrankheit“.

genommene Infektionsversuche waren angeblich erfolgreich. Die Beschreibungen der Mikroorganismen sind sehr unvollständig.

H. H. Prasad (13) endlich berichtete über eine Bakteriose an Gurken in und um Pusa (Indien) im Jahre 1930 und über den Erreger, der gelbe Kolonien mit inneren konzentrischen Ringen bilden, die Gelatine verflüssigen, Milch koagulieren und noch eine Reihe anderer Merkmale besitzen soll, die alle auch dem Bacterium cucurbitae Bryan eigen sind, weshalb er glaubte, daß als Erreger auch das letztgenannte Bakterium in Frage käme. Dabei hat M. K. Bryan (14), die über eine durch Bakterien bedingte Fleckenkrankheit bei Cucurbita maxima (Hubbard squash) Untersuchungen angestellt und den Erreger Bacterium cucurbitae genannt hatte, besonders hervorgehoben, daß Cucumis sativus gegen dieses Bakterium scheinbar immun sei, da bei Infektionsversuchen mit Reinkulturen nur sehr kleine Infektionsstellen entstanden, die sich in der Folgezeit nicht vergrößerten.

Diese Angaben mögen genügen, um zu zeigen, wie groß die Widersprüche hinsichtlich der Ursache der Blattflecken- und Fruchtkrankheiten der Gurken sind.

Was die in Deutschland bisher bekanntgewordenen Krankheitsfälle betrifft, so sei folgendes festgestellt: Kordes hat ausdrücklich betont, daß die genaue Agnoszierung des Erregers späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben müsse, und auch Gante gibt an, daß der Erreger nicht isoliert wurde, dagegen bringt Hülsenberg eine kurze Beschreibung des von Smith und Bryan untersuchten Bakteriums. Es wird von ihm — ähnlich wie es von Kordes und Gante geschehen ist — also an Hand des Handbuches für Pflanzenkrankheiten von Sorauer, Bd. 2, 5. Aufl., aus der Übereinstimmung der äußeren Krankheitssymptome und der Feststellung von Bakterien im Gewebe bzw. Exsudat auf „Eckige Blattflecken"-Krankheit geschlossen worden sein, ohne daß jedoch der Erreger ebenfalls genauer „bestimmt" wurde.

Es schien also dringend geboten, eine eingehende Prüfung darüber vorzunehmen, ob Blattfleckenkrankheit und Fäule der Früchte der Gurken in Deutschland durch ein und denselben Erreger verursacht wird und ob zutreffendenfalls dieser Parasit mit dem von Smith und Bryan beschriebenen Bacterium lachrymans identisch ist.

Durch Herrn Dr. H. Kordes von der Hauptstelle für Pflanzenschutz an der Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau in Neustadt a. H. wurde mir im September 1931 zweimal krankes Pflanzenmaterial, und zwar einmal Blätter und Früchte, ein andermal nur kranke Blätter zur Untersuchung eingesandt. Ferner wurden mir Anfang August 1933 mehrere kranke Gurkenfrüchte aus Mitteldeutschland durch Herrn Regierungsrat Dr. Seeliger von der Zweigstelle Naumburg der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft übermittelt[1]).

Eine genaue Beschreibung des Krankheitsbildes erübrigt sich hier, da es von mir im Sorauer (15) gegeben ist.

Der Erreger.

Aus Blättern sowohl wie aus Früchten wurde der bakterielle Parasit reingezüchtet.

[1]) Den beiden Herren Einsendern sei auch an dieser Stelle für die liebenswürdige Überlassung des Materials bestens gedankt.

Es ist ein etwas plumpes, bereits auf den gewöhnlichen Nährsubstraten zur Teratologie neigendes Stäbchen mit polarer Begeißelung (siehe Abb. 1), weshalb es nach der Nomenklatur von Migula den Gattungsnamen Pseudomonas verdient, worauf schon Carsner 1918 hingewiesen hat. Auf Bouillon-Agar sind die meisten Stäbchen nach 2tägiger Züchtung bei 26° C 1,2—2,4 × 0,5—0,7 μ groß, daneben kommen aber auch etwas aufgeblähte Formen, ferner längere Stäbchen und Fäden vor. Auf neutralem Kartoffel-Agar sind nach der gleichen Zeitdauer die Stäbchen meist 1,0—1,8 μ lang und 0,5—0,7 μ dick und es treten nicht selten angeschwollene, z. T. kugelig aufgetriebene Gebilde auf. Auf Möhren-Agar haben die meisten Stäbchen eine Größe von 0,5—0,7 × 1,4—2,2 μ; aufgeblähte Formen kommen auch hier vor. Smith und Bryan geben als Stäbchengröße sowohl aus Pflanze als auch von künstlichem Substrat 0,8 × 1—2 μ an. Sporen werden von dem Bakterium nicht gebildet. Die Färbung nach Gram ist negativ.



Abb. 1. Pseudomonas lachrymans, Geißelfärbung einer 24std. Bouillon-Agarkultur nach Zettnow. (Vergr. etwa 1100 fach)

Von Reservestoffen wird Volutin in den Stäbchen auf Bouillon- und Möhren-Agar gelegentlich gebildet, ganz vereinzelt finden sich auch volutinhaltige Stäbchen auf Kartoffel-Agar. Im großen und ganzen ist die Volutinspeicherung sehr gering. Glykogen, Iogen und Fett konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Kolonien sind auf Bouillon-Agar rund, ganzrandig, glänzend und anfänglich homogen oder fein granuliert, später sind sie meist differenziert in ein etwas erhabeneres Zentrum und einen peripheren Ringwall; an manchen läßt sich ein opakes Zentrum und radiale Streifung erkennen. Auf Bouillon-Gelatine sind die Kolonien weißlich, feuchtglänzend, mit etwas dichterem Mittelteil und unregelmäßigen Rändern.

Auf Bouillon-Agar-Schrägröhrchen ist der Belag dünn, weißlich, stark transparent und hebt sich daher nur wenig vom Substrat ab. Nach einigen Tagen scheiden sich an der Agar-Oberfläche unterhalb des Bakterienbelages feine Kristalle ab.

Auf Kartoffel-Agar sind die Beläge schmutzig-weißlich, feuchtglänzend, etwas stärker als auf Bouillon-Agar, aber etwas weniger transparent.

Auf Möhren-Agar ist der Belag am deutlichsten, noch etwas stärker als auf Kartoffel-Agar, weißlich und opak.

Auf saurem Würze-Agar findet im allgemeinen keine Entwicklung statt; gelegentlich kommt es vor, daß vom Kondenswasser aus in der un-

teren Kuppe des Schräg-Agars geringes Wachstum auftritt. Mikroskopisch zeigen sich aber bereits nach 8 Tagen überwiegend teratologische Formen.

Im Bouillon-Gelatine-Stich ist nach 3 Tagen noch kaum Verflüssigung festzustellen, nach 8 Tagen ist eine napf- oder trichterförmige Verflüssigung bis höchstens 1,2 cm Tiefe eingetreten, und auch in der Folgezeit schreitet die Verflüssigung nur langsam fort.

Die Bouillon ist nach 48 Std. gleichmäßig getrübt, und es ist ein ganz schwacher Bodensatz entstanden. Innerhalb der sieben Reinkulturen, die hier geprüft wurden, zeigt sich die Trübungs-Intensität etwas verschieden, meist ist sie nur mäßig. Nach weiteren 3 Tagen ist die Trübung etwas stärker und bei leichter Berührung sinken von der Oberfläche feine Flöckchen ab, ohne ein geschlossenes Häutchen gebildet zu haben. Auch der Bodensatz ist deutlicher geworden. Fluoreszenz tritt, wenn überhaupt, nur sehr schwach auf. Die Stäbchen sind meist mittellang und schlank, im übrigen sind in fast allen Kulturen nach 6 Tagen schon Zerfallsprodukte nachweisbar. Nach 8 Tagen geht in einigen Röhrchen die Trübung bereits zurück, und der Bodensatz wird etwas dichter. Nach etwa 4 Wochen ist die Bouillon in der Hälfte der Röhrchen wieder fast klar, bei einigen Stämmen findet sich nach dieser Zeit noch ein feinflockiges Oberflächenwachstum.

In Bouillon mit 2 oder 3% Natriumchlorid tritt noch Entwicklung ein, die Bouillon wird deutlich, wenn auch nicht so stark wie die ohne den höheren NaCl-Zusatz, getrübt, und es zeigt sich in Übereinstimmung mit den Angaben von Smith und Bryan eine ausgesprochene Tendenz zur Fadenbildung, dabei ist auffällig, daß kürzere Fadenstücke z. B. aus 8tägigen Kulturen noch kräftige Eigenbewegung aufweisen. Bei einzelnen Fäden finden sich im mittleren Teil schwache Aufblähungen.

Milch ist noch nach 14 Tagen unverändert; nach 4 Wochen ist eine schwache Koagulation festzustellen.

In Lackmusmilch sieht man bereits nach 2 Tagen, von oben beginnend, einen Umschlag des Lackmusfarbstoffes in Blau. Später tritt langsame Entfärbung ein, schließlich erfolgt Koagulation und damit wieder eine Rötung der oberen Kaseinschichten. Eine weitere Veränderung war innerhalb von 6 Wochen nicht bemerkbar geworden.

Auf Möhrenscheiben hat sich im Laufe von 48 Std. ein feucht aussehender, dünnschleimiger, weißlicher Belag gebildet, der die ganze Möhrenscheibe gleichmäßig überzieht. Mit dem Alter wird der Belag etwas kompakter und schmutzig gelblich. Die Stäbchen zeigen anfangs gute Schwärmfähigkeit und Neigung zu Fadenbildung, später stärkere Differenzierung.

Auf Kartoffel-Keilen entsteht ein dicker, schleimiger, gelblich erscheinender Belag, dessen Farbe später meist ins Gelbbräunliche übergeht. Die Stäbchen sind zumeist lang und schlank, zuweilen finden sich längere, gut färbbare Fäden.

Auf Asparagin-Glyzerin-Agar zeigen alle Kulturen anfänglich schwache, später ein wenig stärker werdende Fluoreszenz.

In Uschinski-Lösung wird ein Oberflächenhäutchen gebildet; das Wachstum ist entgegen den Angaben von Smith und Bryan nicht „kräftig". Die Flüssigkeitssäule zeigt eine schwache bläulich-grüne Fluoreszenz.

In Fermi-Lösung ist das Wachstum mäßig, es wird ein dünnes Oberflächenhäutchen gebildet, die Fluoreszenz ist recht schwach.

In Cohn-Lösung entsteht ein schleierartiges Oberflächenhäutchen, mäßige Trübung der Lösung, Bodensatz, aber keine Fluoreszenz.

Indolbildung findet im Gegensatz zu den Angaben von Smith und Bryan nicht statt.



Abb. 2. Gurkenblätter. Nadelstich-Infektion ausgeführt am 3. März, photographiert am 8. März 1932.



Abb. 3. Dieselben Blätter wie Abb. 2, nur 8 Tage später (16. März 1932) aufgenommen.

Wenn das Vermögen der Stärkehydrolysierung überhaupt bei den Stämmen vorhanden ist, so ist es meist nur schwach.

Schwefelwasserstoff wird nicht gebildet.

Hinsichtlich der Nitratreduktion geben Smith und Bryan

an: Nitrat wird nicht reduziert. Wenn meinerseits dennoch bei allen geprüften Stämmen eine schwache Nitritbildung nachweisbar war, so erklärt sich der scheinbare Widerspruch damit, daß von den amerikanischen Autoren ein weniger empfindliches Reagens (Stärke, Kaliumjodid und Schwefelsäure) verwandt worden ist wie von mir (Grieß sches Reagens).

Verhalten gegenüber verschiedenen

a) Stickstoffverbindungen.

Auf einem Substrat folgender Zusammensetzung: $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 0.05%, KCl 0,1%, K_2HPO_4 0,1%, Natriumzitrat 1%, Asparagin 0,2% und Agar 2%, oder an Stelle des Asparagins andere N-Quellen in Mengen, deren N-Gehalt dem von 0,2% Asparagin entspricht, wird Asparagin als N-Quelle am besten verwertet; es folgt dann Pepton, α-Alanin, Leuzin, Harnstoff und schließlich Glykokoll. Nitrate und Ammonverbindungen werden unter den obigen Bedingungen nicht gut ausgenutzt; soweit Unterschiede zutage treten, ist die Verwertung der Ammonsalze vielleicht noch etwas besser als die von Nitraten. Hexamethylentetramin ist als Stickstoffquelle ungeeignet.



Abb. 4.
Gurkenblatt mit typisch eckigen Blattflecken, künstlich infiziert am 30. Aug., aufgenommen am 14. Sept. 1933.

b) Kohlenstoffverbindungen.

Geprüft wurden an Kohlehydraten: Glukose, Fruktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Raffinose, Arabinose, Xylose und Zellulose, an Alkoholen: Glyzerin, Erythrit, Mannit, Dulzit und Sorbit; an organischen Säuren resp. ihren Alkalisalzen: Natriumformiat, -azetat, -laktat, -malonat, -tartrat und -zitrat. Diese Stoffe wurden jeweils 1proz. angewandt in einem Substrat, das an Salzen die gleichen enthielt wie das zu den N-Verbindungen benutzte, den Agar jedoch nur in 1proz. Konzentration und außerdem 6% Lackmuslösung. Neutralisiert war mit Natriumkarbonat. Gas ist in keinem Fall gebildet worden, auch schwache Säurebildung aus Glukose und Saccharose ist im Gegensatz zu den Angaben von Smith und Bryan nicht festzustellen gewesen. Stark Säure wird aber aus Xylose gebildet, und zwar von allen zu den Prüfungen herangezogenen Stämmen (p_H bei Beginn des

Versuches etwa 6,9—7,0, nach 5 Wochen 4,2—4,5). In den Röhrchen mit den Natrium-Verbindungen der organischen Säuren ist in allen Fällen die Reaktion nach der alkalischen Seite verschoben worden.

c) Temperaturen.

Zwischen 0 und + 3° C zeigt sich nach 6 Wochen auf Bouillon-Agar ein hauchdünner Belag und mikroskopisch lassen sich kurze bis mittellange Stäbchen nachweisen.

Zwischen + 2 und + 4,5° C ist nach einer Woche bereits ein sehr dünner, nur sehr langsam sich etwas verstärkender Belag vorhanden.

Zwischen + 8 und + 9,8° C ist schon nach 3 Tagen eine, wenn auch schwache, so doch deutliche Entwicklung sichtbar.



Abb. 5.



Abb. 6.

Abb. 5. Gurke. Nadelstich-Infektionen ausgeführt am 16. Aug., aufgenommen am 21. Aug. 1933.

Abb. 6. Dieselbe Gurke wie Abb. 5, jedoch 8 Tage später (29. Aug. 1933) aufgenommen.

Zwischen + 11 und + 12,5° C wird das Wachstum makroskopisch bereits nach 2 Tagen erkennbar.

Zwischen + 19,6 und 21,9° C kann ein hauchdünner Belag schon nach 24 Std. festgestellt werden.

Zwischen + 23,4 und 24,5° C ist die Entwicklung noch etwas deutlicher als in der nächst niederen Temperaturstufe.

Zwischen + 27,6 und + 28,5° C ist in der Entwicklungsstärke gegenüber 24° kein Unterschied erkennbar.

Zwischen + 29,5 und + 31° C findet sich eine sehr geringe Entwicklungsverzögerung.

Zwischen + 32,2 und + 33,5° C ist die Wachstumsverzögerung schon deutlich.

Zwischen + 36,3 und + 37,9 findet keine Entwicklung mehr statt. Das Wachstumsoptimum liegt demnach zwischen + 23 und + 28,5° C, das Minimum noch unterhalb 0°, das Maximum dagegen zwischen 33,5 und 36,5°.

Die Bestimmung des thermalen Tötungspunktes.

Der thermale Tötungspunkt liegt nach Carsner zwischen 49 und 50° C. Er wurde bei meinen Stämmen zwischen 47 und 48° C liegend gefunden. Daß er von Carsner etwas höher angegeben worden ist, hat seinen Grund wahrscheinlich darin, daß die von mir angewandte Bestimmungsmethode (je 1 ccm Bakteriensuspension in dünnwandigen Sporentötungsröhrchen entsprechend erhitzt, abgekühlt, dann je 5 Ösen auf Bouillon-Schräg-Agar übertragen) genauer ist.

Pathogenitätsprüfungen.

Blätter junger Topfpflanzen von Gurken wurden im Gewächshaus mittels Nadelstich-Infektionen geimpft. Es entstanden nach wenigen Tagen um die Einstichstellen herum durchsichtige helle Flecke, die teilweise einen schwachen chlorotischen Hof hatten (siehe Abb. 2). Einzelne Flecke vergrößerten sich stärker z. T. entlang den Adern, diese und eine Zone der gegenüberliegenden Seite noch einschließend. Die Gestalt war zuweilen typisch eckig, zuweilen aber auch weniger charakteristisch in der Form (s. Abb. 3 u. 4). Die Flecken wurden später bräunlich und vertrockneten.

Bei Früchten bildeten sich an den Impfstellen anfänglich gummiartige Exsudate (siehe Abb. 5), die dann aber eintrockneten, während die Erkrankung innerhalb der Frucht weitere Fortschritte machte, wie Abb. 6 erkennen läßt. Gelegentlich kam es vor, daß an der ursprünglichen Infektionsstelle die Ausscheidungen nicht oder nur teilweise gummiartig erhärteten, während ein Teil an der Oberfläche herabrann. Die Bakterien drangen dann von hier aus in die Spaltöffnungen ein, hier zahlreiche, meist recht dicht beieinanderliegende Flecke hervorrufend, wie Abb. 7 zeigt.

Abb. 7. Gurke; infiziert an der oberen lochartig eingesunkenen Stelle; Sekundärinfektionen erhalten durch Herabfließen bakterienhaltiger Ausscheidungen der Einstichstelle.

Auf den reichlich austretenden Schleimmassen der Früchte siedeln sich häufig und leicht andere Mikroorganismen an, die dann den Fäuleprozeß beschleunigen, ohne jedoch für sich allein die Gurken angreifen zu können.

Auch an den Blättern können bakterienhaltige Tröpfchen austreten, die beim Eintrocknen als dünne, durchsichtige Häutchen die Krankheitsherde bedecken. Aus den schleimigen bzw. gummiartigen Exsudaten konnten die Bakterien reisoliert werden, und Vergleichsprüfungen zeigten, daß sie mit den eingeimpften identisch waren.

Infektionen an Bohnen-, Erbsen- und Salatpflanzen verliefen völlig negativ.

Schlußbetrachtungen.

Abgesehen von einigen Verschiedenheiten in den Größenverhältnissen der Stäbchen, der Art der Zersetzung einzelner Zuckerarten, des Wachstums in Uschinsky-Lösung, der Indolbildung und des Vermögens der Nitratreduktion ist die Übereinstimmung zwischen dem von Smith und Bryan beschriebenen Erreger der Gurkenbakteriose und den von mir untersuchten bakteriellen Parasiten außerordentlich weitgehend. Es kann daher keinem Zweifel unterliegen, daß die Erreger identisch sein müssen, es sich also in beiden Fällen um Pseudomonas lachrymans Sm. et Bry. handelt und demnach die früher in Mitteleuropa unbekannte „Eckige Blattflecken"-Krankheit der Gurken nunmehr auch in Deutschland einwandfrei festgestellt ist.

Zusammenfassung.

Aus Früchten und Blättern kranker Gurken aus Süd- und Mitteldeutschland konnte ein Bakterium isoliert werden, das auf Gurken zurückgeimpft die gleichen Krankheitserscheinungen wieder hervorrief. Die genaue Untersuchung dieses Bakteriums ergab die Identität mit Pseud. lachrymans E. F. Sm. et Bry., dem Erreger der „Eckigen Blattflecken"-Krankheit der Gurken, womit der Beweis erbracht ist, daß diese Gurkenbakteriose neuerdings auch in Deutschland vorkommt.

Literatur.

1. Hülsenberg, H., Die eckige Blattfleckenkrankheit der Gurken (Pseudomonas lachrymans Sm. et Bry.) eine für Deutschland neue Gurkenerkrankung. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 75. 1929. S. 139—140.) — 2. Kordes, H., Eine durch Bakterien hervorgerufene Blattfleckenkrankheit der Gurken. (Nachrichtenbl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 11. 1931. S. 63—64.) — 3. Ganto, Th., Die eckige Blattfleckenkrankheit der Gurken. (Der Obst- u. Gemüsebau. Bd. 78. 1932. S. 88—89.) — 4. Burger, O. F., A new cucumber disease. (Florida Agric. Exp. Stat. Rept. [1911/12.] 1913. p. C—CI); A bacterial rot of cucumbers. (Phytopathology. Vol. 3. 1913. p. 169—170); Bacterial rot of cucumbers. (Florida Agric. Exp. Stat. Rept. [1912/13.] 1914. p. XC—XCIV); Cucumber rot. (Florida Exp. Stat. Bull. Vol. 121. 1914. p. 97—109.) — 5. Traverso, G. B., Sulla bacteriosi del cetriolo in Italia. (Atti R. Accad. Lincei Rend. Cl. Sci. Tis. Mat. e Nat. Ser. 5. Bd. 24. Sem. I. Fasc. 5. 1915. p. 456—460.) — 6. Smith, E. F., and Bryan, M. K., Angular leaf-spot of cucumbers. (Journ. of Agricult. Research. Vol. 5. 1915. p. 465—476.) — 7. Potebnia, A. A., Gribnye parazity vysshikh rastonii khar' kaskoi i smezhnykh gubernii. [Pilzliche Parasiten an höheren Pflanzen in Kharkov und den angrenzenden Distrikten.] (Pub.) (Kharkovsk. Oblastn. Sel'shokhoe. Opytn. Stan. Phitopathol. Otd. I. 1915/1916. p. 1—120. Ref. Phytopathology. Vol. 6. 1916. p. 293.) — 8. Carsner, E., Angular-leaf spot of cucumber Dissemination, overwintering, and control. (Journ. Agr. Res. Vol. 15. 1918. p. 201—220.) — 9. Burgwitz, G. K., Bakterielle Blattfleckenkrankheit der Gurken. [Russisch.] (Morbi plantarum Leningrad. Bd. 13. 1924. p. 50; ref. Botan. Zentralbl. Bd. 149. 1926. S. 405.) — 10. Weber, G. F., Cucumber fruit-rot and angular leaf-spot. (Abstr. in Phytopathology. Vol. 18. 1928. p. 133.) — 11. Weber, G. F., Angular leaf spot and fruit rot of Cucumbers caused by Bacterium lachrymans E. F. S. and Bry. (Florida Agric. Exp. Stat. Tech. Bull. 207. 1929. 32 pp.) — 12. Nicolas, G., et Aggéry, Une maladie Bactérienne de quelques cucumis (Cucumis Melo L. et C. sativus L.). (Rev. path. vég. ent. agric. T. 16. 1929. p. 39—48.) — 13. Prasad, H. H., A note on bacterial leaf spot of Khira (Cucumis sativus). (Indian Journ. Agric. Sci. I, 2. 1931. p. 289—290.) — 14. Bryan, Mary K., Bacterial leaf spot of squash. (Bact. cucurbitae). (Journ. Agric. Res. Vol. 40. 1930. p. 385—391.) — 15. Stapp, C., „Bakteriosen der Cucurbitaceen" in: Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 5. Aufl. Bd. 2. 1928. S. 278—286.

The Possibilities of the Breed Microscopic count of Bacteria in Milk, Considered from the Statistical Point of View[1]).

[The State College of Washington.]

By **W. Alfred Buice**, M. S., M. D., Dr. P. H.

With 2 figures in the text.

Introductory.

Before solid media came to be used in bacteriology the various crude microscopic methods of estimating the numbers of microorganisms were the only methods in use, but with the advent of the solid media the microscopic methods became more or less obsolescent. They have till this day remained in the background for practical use, except for the counting of blood cells, eggs of parasites and, to some degree, the counting of bacteria in milk, chiefly when certain special purposes are had in view.

But the plate count on solid media requires excessive loss of time, labor and expense. Besides, the plate count is notably inaccurate. For these reasons, several efforts have been made to devise more direct methods of counting which would be more accurate and more economical. The most notable attempt to devise a practical microscopic method is that of Breed (1) for the counting of bacteria in milk.

The first attempt (1906) to count bacteria in milk by a microscopic method was made by Slack (2). He centrifugalized 2 c.c. of milk and counted the bacteria in a film obtained from the sediment smeared over an area of 4 sq. cm.

In 1910 Prescott and Breed (3) devised a method for counting the tissue cells in milk.

In 1911 Breed (1) used his and Prescott's method of counting tissue cells for the counting of bacteria in milk. This is the microscopic method considered in this present paper.

The purpose of this paper is to consider the Breed microscopic method of counting bacteria in milk from the point of view of the statistician, with regard to its accuracy and its possibilities. Some attention is given to the plate method, as compared with the Breed method. Furthermore, the theoretical numbers of bacteria present as obtained by methods of statistical science are considered.

Technique.

The technique used was essentially the same as that prescribed in "Standard Methods of Milk Analysis" (1927), published by the American Public Health Association (4). The method mentioned in "Standard Methods of Milk Analysis" is the same as that of Breed.

The five classes of milk whose bacterial densities are considered in these experiments were the following: Certified Milk, as defined by the American Medical Milk Commission (5), and the four grades of milk as defined by the

[1]) From the bacteriological laboratories of the School of Public Health, Johns Hopkins University.

"Standard Milk Ordinance", published by the United States Public Health Service (6) (Table 1).

The Cultures. Standard nutrient broth as defined in "Standard Methods of Milk Analysis" was used for growing cultures of Bacterium coli. After being sterilized, a one-liter flask containing 300 c.c. of broth was inoculated with the colon organisms. The inoculated broth was shaken 25 times or more. Then a plate count was made immediately to determine the initial number of organisms per c.c. of the broth. The culture then was incubated at 37.5° C. Beginning at two hours of incubation, both duplicate plate counts and microscopic count (Breed) smears were made every half hour, and made at the same time. This frequency of making plates and Breed smears was done with the hope of catching the bacterial densities comparable to the densities of bacteria in the various grades of milk.

Table 1. Ranges of bacterial contents of Certified milk and of the four grades of Raw milk defined in "Standard Milk Ordinance" of the United States Public Health Service. Also are shown the arithmetic mid-points of the ranges (as calculated by the writer).

	Bacterial Ranges	Mid-points of Ranges
Certified	Up to 10,000	5,000
Grade A	Up to 50,000	30,000 (mid-point between maximum of Certified and maximum of Grade A)
Grade B	50,000 to 200,000	125,000
Grade C	200,000 to 1,000,000	600,000
Grade D	1,000,000 to 5,000,000	3,000,000

The effort was to get counts of the organisms of the Plate Method, comparable to the arithmetic Mid-points (Table 1) of the ranges of bacterial numbers allowed for Certified milk and for each grade of raw milk, the ranges suggested by the "Standard Milk Ordinance" of the U. S. Public Health Service and as determined by plate counts. Efforts were repeated till such comparable numbers were obtained for each grade. A total of sixteen such attempts were made, but the data for only two of those attempts were deemed as approaching satisfaction and they are given in this paper as Experiments I and II.

The Plate Counts. Beginning at the end of two hours of incubation, duplicate plate inoculations from the broth were made every half hour, after vigorous shaking of the culture to distribute the bacteria evenly. At each half-hour period, 1 c.c. of the broth culture was transferred with sterile pipette to a tube containing 9 c.c. of sterile physiological salt solution. This was thoroughly mixed by shaking. After mixing, 1 c.c of the mixture was transferred with a fresh sterile pipette to a second tube of saline. This was shaken and 1 c.c. of it taken to a third saline tube. Such dilutions were continued through a series of sterile saline tubes so long as regarded necessary, as judged by efforts preceding. Then from each dilution was taken 1 c.c. of the suspended organisms to duplicate nutrient agar plates. The plates were incubated 48 hours. Those plates containing between 30 and 300 co-

lonies per plate were selected and their colonies counted, the number of organisms per c.c. of broth calculated and recorded.

The Microscopic (Breed) Counts. The smears for microscopic counts were made every half hour, beginning at the two-hour period of incubation of the culture. At the same time the plate inoculations were made 5 c.c. of the culture was transferred with a sterile pipette to a sterile test tube. From the sterile test tube 10 Breed smears were made on two clean microscopic slides, five to the slide. Thus every half hour 10 Breed smears were made from the incubating broth culture. The smears were made as per "Standard Methods of Milk Analysis", which method is as follows: A specially constructed pipette delivering 0.01 c.c. of broth culture was used. The 0.01 c.c was spread evenly with a sewing needle over 1 square centimeter of surface on the slide. Five such smears were made on each of two slides every half hour of incubation of the broth culture. The slides were left on a level table beneath a news paper to protect from dust, and usually were dry in 5 to 10 minutes.

After the smears had thoroughly dried, they were immersed in 90% alcohol for one minute to fix the bacteria to the slide. The slides were then immersed for one to two minutes in Loefflers alkaline methylene blue solution, after which they were washed, dried, and counted at some convenient time.

Only those plate counts revealing a number of bacteria comparable to the mid-points (Table 1) of milk grades were recorded. Only those microscopic smears made at the same time with the plates mentioned were counted and recorded.

For counting, the microscope was equipped with a 1.9 mm. oil immersion objective, mechanical stage, and a special ocular micrometer with a circular ruling divided into quadrants, as recommended by "Standard Methods of Milk Analysis". The circle being much smaller than the entire field of the ordinary ocular, there was less liklihood of overlooking bacteria in the peripheral area of the smaller field. The microscope was so adjusted that the diameter of the circle exactly conformed to 0.146 mm. on a stage micrometer. Then the amount of dried milk seen within the circle equals 1/600,000 part of a cc. of milk.

"Standard Methods of Milk Analysis" states that at least 30 fields should be counted. Presumably only one smear is to be made of the milk. But in this study it was deemed advisable to count 10 fields in each of 10 smears made at each half-hour period. Thus a total of 100 fields were counted for each half-hour stage in the growth of the culture. On moving from field to field, during the counting process, the mechanical stage was given a sudden, jerking motion and the fingers quickly removed, in order to obtain fair sampling of the smears. When the total number of bacteria for the 100 fields had been counted the sum was divided by 100 to get the mean or average per field. The average number per field was then multiplied by 600,000 to obtain the number of bacteria per cc. of broth.

Results and Discussion.

1. The Plate Count.

The broth in Experiment I was inoculated with 1410 organisms per cc. of broth, as shown by the plate count made immediately after the in-

oculation. Bacterial contents equivalent to those of the various grades of milk were obtained in incubation periods as follows: equivalent bacterial density within the range of Certified milk, 5,900 per cc., after 2½ hours of incubation; equivalent to Grade A density of bacteria, 34,000 per cc., 4½ hours; Grade B density, 120,000 per cc., 5½ hours; Grade C, 620,000 per cc., 7 hours; Grade D, 3,200,000 per cc., 8½ hours. See Table 2 for the essential facts mentioned above.

Table 2. Results of plate counts in Experiments I and II.

Equivalent milk grade	Number bacteria per c.c.	
	Experiment I	Experiment II
Certified	5,900	4,000
Grade A	34,000	31,500
Grade B	120,000	116,000
Grade C	620,000	450,000
Grade D	3,200,000	2,290,000

In Experiment II the initial inoculation of the broth numbered 1440 bacteria per cc. of broth, as determined by the plate count. Equivalent bacterial density within the range of Certified milk, 4,000 per cc., was obtained at the end of 2 hours incubation; that within the range of Grade A, 31,500 per cc., at the end of 4 hours; that of Grade B, 116,000 per cc., in 5 hours; Grade C, 450,000 per cc., 6½ hours; Grade D, 2,290,000 per cc., 8 hours. See Table 2.

2. The Microscopic (Breed) Count.

Of the 10 Breed smears made in Experiment I when the broth contained a bacterial density within the range of Certified milk (2½ hours incubation), the 100 microscopic fields examined revealed only 1 bacterium, an average of 0.01 bacterium per field. When this average is multiplied by the factor 600,000 we get a result indicating 6,000 bacteria per cc. of broth. See Table 3.

Table 3. Results of microscopic counts in Experiments I and II.

Equivalent milk grade	Number bacteria in 100 fields		Microsc. count per c.c.	
	Exp. I	Exp. II	Exp. I	Exp. II
Certified	1	1	6,000	6,000
Grade A	7	6	42,000	36,000
Grade B	24	25	144,000	150,000
Grade C	129	107	774,000	642,000
Grade D	800	647	4,800,000	3,882,000

When the Certified equivalent (2 hours incubation) in Experiment II was examined by the microscopic method, again only 1 bacterium was found in the 100 fields. (As a matter of curiosity examination of a hundred fields was repeated a few times and from none to three bacteria were found each time). This, also, gave a final count of 6,000 per cc.

Grade A equivalent in Experiment I revealed a total of 7 bacteria in the 100 fields and a final count of 42,000 per cc.

Grade A in Experiment II yielded a total of 6 organisms in the 100 fields and a final count of 36,000.

In the first experiment, Grade B, 24 bacteria were seen and a final count of 144,000 per cc. was reached.

In the second experiment, Grade B, 25 bacteria were observed and a final count of 150,000 recorded.

Grade C in Experiment I yielded 129 bacteria and a final count of 774,000.

Grade C in Experiment II gave 107 organisms and a count of 642,000 per cc.

Grade D, Experiment I, furnished a total of 800 bacteria in 100 fields and a final estimation of 4,800,000 per cc.

Grade D, Experiment II, revealed 647 bacteria and a final count of 3,882,000 per cc.

Table 4. Experiments I and II Compared.

Equivalent Grade	Microsc. count per c.c.		Plate Count per c.c.		Approximate Ratio Microsc. to Plate Count	
	Exp. I	Exp. II	Exp. I	Exp. II	Exp. I	Exp. II
Certified	6,000	6,000	5,900	4,000	1.01/1	1.50/1
Grade A	42,000	36,000	34,000	31,500	1.23/1	1.14/1
Grade B	144,000	150,000	120,000	116,000	1.20/1	1.30/1
Grade C	774,000	642,000	620,000	450,000	1.25/1	1.43/1
Grade D	4,800,000	3,882,000	3,200,000	2,290,000	1.50/1	1.70/1

(3) Sources of Error in the Plate Method.

It is well known that the plate method of estimating numbers of bacteria is subject to several sources of error, chiefly the following:

Of the several species of bacteria usually in milk, some will not grow in the composition of the particular medium used or at the particular incubation temperature or at the hydrogen-ion concentration.

Clumps of bacteria in milk cannot be avoided and frequently such clumps give rise to single colonies, thus producing error in the plate count.

Of course, the plate count is subject to error of sampling in the dilution and plating processes.

(4) Sources of Error in the Microscopic Method.

The microscopic method of counting organisms in milk also is subject to great error. First, it is difficult to measure the small quantity of milk accurately; that is, the 0.01 cc. quantity sample for the making of the smear. The smaller the sample the greater the chance of error. The 0.01 cc. sample for the Breed count is small and introduces chance of great error. But the use of ten smears instead of one reduces chance of such error.

Milks containing few bacteria offer relatively great chance of error in the selection of microscopic fields, which, of course, must be chosen by chance.

Dead bacteria may be counted. Wilson found that even "in young broth cultures less than 24 hours old" of a single species that from 10% to 35% of the individual organisms were dead.

Bacteria may be lost in the preparation of slides, however careful the technique. This loss may result in much error in the count, especially in milks of low bacterial contents.

(5) Fitting a Curve to the Data Observed in Experiment I.

Consideration of the observed data in the microscopic count of Experiment I (Table 3) suggested that the material is exponential in form. The logarithms of the X's and the Y's were taken and plotted on arithmetic paper. The resulting curve, as may be seen in the accompanying graph, was approximately lineal. This suggested fitting the curve,

$$y \text{ equals } ax^n.$$

The method of least squares was decided upon as the most convenient method of fit. Assuming the test of validity for a functional representation of a series, as Legendre formulated in 1860, that when the constants of a mathematical function are to be determined from a set of empirical observations that solution is best which makes the sums of the squares of the residual errors a minimum, and defining the residual errors as logarithmic deviations in the vertical plane, then the normal equations can be written directly for the curve,

$$y \text{ equals } ax^n.$$

Taking the log of both sides of the equation, we have,

log y equals log a plus n log x.

The normal equations for fitting this curve are:

N log a plus n S log x equals S log y,

log a S log x plus n S $(\log x)^2$ equals S log x log y,

when N is the number of observations (5) and S denotes summation.

x (Plate)	y (Microsc.)	log x	log y	$(\log x)^2$	log x log y
5,900	6,000	3.7708520	3.7781513	14.2193248	14.2468494
34,000	42,000	4.5314789	4.6232493	20.5343010	20.5901567
120,000	144,000	5.0791812	5.1583625	25.7980817	20.2002578
620,000	774,000	5.7923917	5.8887410	33.5518016	34.1098945
3,200,000	4,800,000	6.5051500	6.6812412	42.3169765	43.4624762
		25.6790538	26.1297453	136.4204856	138.9696346

By solving the normal equations we obtain the constants, a and n:

5 log a plus n 25.6790538 equals 26.1297453

25.6790538 log a plus n 136.4204856 equals 138.9696346

log a plus 5.1358108 n equals 5.2259491

log a plus 5.3125201 n equals 5.4117894

.1767093 n equals .1858403

n equals 1.0516724

5 log a equals 26.1297453 minus (1.0516724) (25.6790538)

5 log a equals —.876207

log a equals —.175241

a equals .667970

This solution determines the curve,

$$y \text{ equals } .667970 \; x^{1.0516724}.$$

Substituting the values for x, we obtain the theoretical values for y and logarithms for same, as shown in the following tabulations:

x (Plate)	Observed y (Microsc.)	Theoretical y	Log Theo. y
5,900	6,000	6,172	3.7904259
34,000	42,000	38,939	4.5903848
120,000	144,000	146,688	5.1663945
620,000	774,000	825,003	5.9164555
3,200,000	4,800,000	4,634,936	6.6660441

· The results of the table above are shown graphically in Fig. 1. It is seen that the observed points and the theoretical points are closely associated, indicating that the microscopic and plate counts are quite constant in their relationship to each other. It has been pointed out that both the plate and the Breed methods are subject to several factors of error. Fig. 1 appears to indicate that the errors involved in the two counts quite well balance each other.

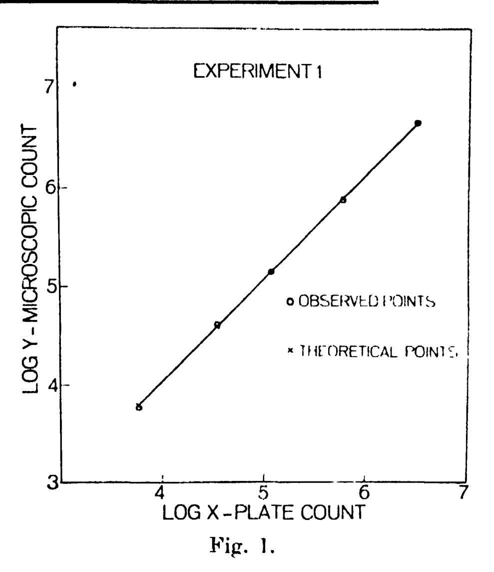


Fig. 1.

(6) Fitting a Curve to the Data Observed in Experiment II.

A method of fitting this curve is the same as for that in Experiment I (Table 3).

$$y \text{ equals } ax^n$$

$$\text{Log } y \text{ equals } \log a \text{ plus } n \log x$$

Normal equations:

$$N \log a \text{ plus } n \, S \log x \text{ equals } S \log y$$

$$\text{Log } a \, S \log x \text{ plus } n \, S (\log x)^2 \text{ equals } S \log x \log y$$

when N is the number of observations (5) and S denotes summation.

x (Plate)	y (Microsc.)	log x	log y	$(\log x)^2$	log x log y
4,000	6,000	3.6020600	3.7781513	12.9748362	13.6091277
31,500	36,000	4.4983106	4.5563025	20.2347983	20.4956638
116,000	150,000	5.0644580	5.1760913	25.6487348	26.2140970
450,000	642,000	5.6532125	5.8075350	31.9588116	32.8312295
2,290,000	3,882,000	6.3598355	6.5890555	40.4475076	41.9053091
·		25.1778766	25.9071356	131.2646885	135.0554271

By solving the normal equations we obtain the constants, a and n:

n equals 1.0264533
a equals 1.029557.

This determines the curve,

$$y \text{ equals } 1.029557\ x^{1.0264533}.$$

Substituting the values for x, we obtain the theoretical values for y and their logarithms, as shown in the table below.

x (Plate)	Observed y (Microsc.)	Theoretical y	Log Theo. y
4,000	6,000	5,129	3.7100327
31,000	36,000	42,654	4.6299598
116,000	150,000	162,585	5.2110704
450,000	642,000	653,746	5.8154080
2,290,000	3,882,000	3,473,159	6.5407248

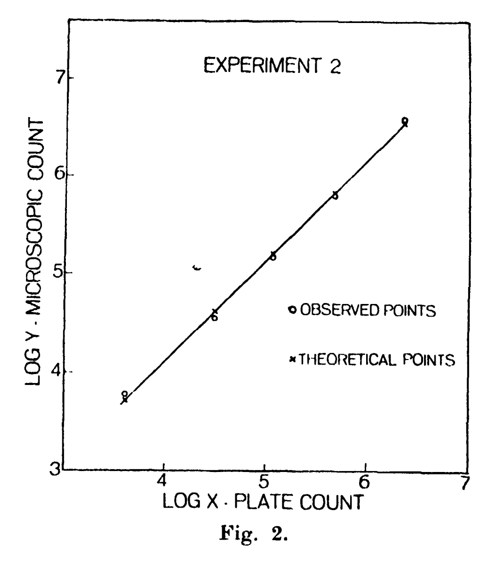


Fig. 2.

The results shown in the table above are also shown graphically in Fig. 2. But Fig. 2 does not reveal so good a fit as does Fig. 1. By consulting Table 4 it is seen that there is greater inconsistency of microscopic-plate ratios in Experiment II than in Experiment I.

(7) The Ratio of Microscopic Count to the Plate Count.

By examination of Table 4 it will be seen that the tendency of the ratio of microscopic count to plate count is to increase with the increasing age of the culture and increasing bacterial numbers. The only possible explanation of this tendency which occurs at present is the possibility of increasingly larger numbers of dead bacteria. Yet, with cultures so young as our oldest and seeded with only one species of bacterium the number of dead organisms should not be large.

Wilson (7) found that the percentage of viable organisms in broth cultures examined for 24 hours after inoculation seldom rose above 90% of the total number of organisms present, and usually the percentage was much lower. This applied at all stages from time of inoculation up to 24 hours. His broth was inoculated with B. suipestifer.

A more or less puzzling feature of the tendency of this microscopic-plate ratio is the fact that it extends in opposite direction of the tendency of the ratios found by Brew (8) and others in milk. To illustrate, Brew found the tendency shown in the following:

Number of Bacteria		Ratios
Microscopic Count	Plate Count	
221,000	5,000	44/1
1,087,000	43,000	25/1
4,064,000	331,000	12/1
17,889,000	3,420,000	5/1

It is seen from the above tabulation that Brew's highest microscopic-plate ratios were in milks of low bacterial contents.

How can this conspicuous disagreement of ratio tendencies be explained? There is no certain feeling that it can be explained but the following may be contributing factors:

(1) Brew was examining milk; ours was broth culture.

(2) The milk was seeded, by the natural method, with a variety of organisms of various types; while in this present study only one species of organism was used.

(3) Some of the bacterial species in Brew's milks probably refused to grow in the plated medium and at the incubation temperature; Bacterium coli of the present study grows readily in the plated medium and at the incubated temperature.

(4) There might have been antagonistic species in Brew's milk; here, we have only one species present.

(5) The milks probably were older when the tests were made than were our broth cultures.

(6) Bacteria drawn from the cow's udder and accustomed to that environment may not multiply or may die in the external conditions.

Yet, Brew's findings in ratios are not so disconcerting when we recall Wilson's statement that in a young broth culture of B. suipestifer rarely did the viable organisms rise above 90% of the total count of both living and dead organisms and that usually the percentage was much lower than 90%, averaging about 60% to 70%.

Again, it is seen that Brew's ratios of the direct count to the plate count are much higher than those obtained in this study. The several factors mentioned above might again apply here in explaining the discrepancy between the two findings. Breed and his co-workers in milk analyses state that in general the ratio of the count by Breed method to that by plate averages about 4/1, with very wide variations. The variations at times become exceedingly wide, as reported by those workers.

(8) Reliability of the Breed Count.

(a) When compared with the Plate count. An examination of Table 4 and of Figures 1 and 2 shows the plate and Breed counts to parallel closely. The microscopic count is usually in excess of the plate count, which was discussed in connection with a consideration of the ratios existing between the counts.

But a comparison of the Breed count with the plate count as the standard is quite erroneous, for it is well known that not all bacteria in a plate grow or not all produce separate colonies. In milk there are several species of bacteria always present. Some of those species may not grow

in the composition of medium used; others may not grow at the incubation temperature used; while still others may not grow in the prevailing hydrogen-ion concentration; and some groups produce only one colony. Hence, the plate count is a most inacurate standard of comparison.

(b) When considered from the statistical point of view alone. All investigations of the reliability of the microscopic count of bacteria during the past have been comparisons of the Breed method with the Plate method. The dependability of the Breed microscopic count for the various grades of milk cannot be stated in mathematical terms in the present stage of development of statistical science. But common reason shows that in the cases of the higher grades of milk, with low bacterial contents, the Breed method is highly subject to error. The finding of a single bacterium or the missing of one makes a difference of 6,000 per c.c. in the final count. At the most, only a very few organisms can be found in a hundred fields of certified milk and none are likely to be found, as was later demonstrated by the writer for his own satisfaction. This together with the fact that 600,000 is the factor by which the average number of bacteria per field must be multiplied in order to obtain the number per c.c. in milk makes the liability to error well nigh enormous in the examination of Certified milk.

Reference to Table 3 reveals the Breed method is also subject to great error in the counting of Grades A and B respectively, for there are still only a few organisms to be found in 100 fields of those grades, and therefore, the finding of one or two more or one or two less makes a large difference in the final count.

Using the same method of reasoning as above, one would judge that the microscopic count at least somewhat approaches reliability in the counting of Grades C and D. Referring to Tables 3, it is seen that an average of 118 bacteria per hundred fields were found in Grade C in the two experiments. Yet, this is an average of only 1.18 bacteria per field. Table 3 also shows that in Grade D an average of 723 bacteria were seen in 100 fields which, perhaps, represents a fair approach to respectable reliability for estimation.

Allen (9) has stated that the Breed count is reliable for milks containing excess of 300,000 bacteria per c.c., his standard of reliability being the plate count. This density of bacteria lies in the lower part of the range of Grade C. Considering it purely as a matter of sampling and of reason and without being able to state it in mathematical terms, it is probable that the statistician would disagree with Allen in his statement.

Furthermore, the statistician, judging from the general statistical situation, probably would disagree decisively with Robertson and Schacht (10) in the first clause of their statement: "The microscopic technic can be made as accurate as the agar plate method, but it is neither as practical nor as adaptable as a routine procedure to the determination of the bacterial content of milk when the standard plate count is less than 30,000". Judging alone as a matter of reasoning, to be made as accurate as the plate method for the counting of bacteria in milks of low bacterial content, the microscopic count would have to include such a large number of microscopic fields from such a large number of separately made smears as to become wholly unreasonable in its demand for time and labor. But Robertson and Schacht make this further statement: "The direct

microscopic count lends itself most effectively to survey work . . .", meaning a survey of the general bacteriological situation, for a very rough estimate of the numbers of bacteria present, whether great or small.

As a matter of judgment, it appears from this study that the Breed method is unreliable for counting bacteria in milk, excepting Grades C and D, where the sampling of the microscopic fields reveals numbers sufficiently large as to give a fair representation.

It will be seen from Table 3 that the relative variability of the number of organisms found in the broths comparable in bacterial content to the higher grades of milk, was not great. Indeed, in the two experiments the number of bacteria seen in broth equivalents of certified milk were the same-one bacterium in each. In broths corresponding to Grades A and B of milk, the relative variabilities again are slight; that is, much less than ordinarily would be expected in such sampling processes. The lack of so much relative variability here as ordinarily would be expected probably is due to the fact that we have only two samples (two experiments). If a large number of experiments, say fifty or one hundred, were done, we might obtain a much better exhibition of variability in the broths representing the milks of low bacterial contents. Yet, in this connection it should be remembered that in this investigation a microscopic count of 100 fields on ten smears was made.

Conclusions.

First, it appears from this study that a comparison of the Breed method of microscopic counting with the Plate method indicates the former is reliable in the estimation of the number of bacteria in a single species in broth cultures comparable in bacterial numbers to the various grades of milk, if the Plate method may be taken as the standard. Even in the broth cultures of lower bacterial contents, a close parallelism in numbers is noted.

Second, the ratios between the microscopic and plate counts show a tendency to increase with the increasing age and increasing numbers of bacteria in the broth cultures.

Third, consideration of the microscopic count (Breed method) from the statistical point of view alone and without reference to the well-known erroneous character of the plate count, indicates the microscopic count to be wholly unreliable for the estimation of numbers of bacteria in Certified, Grade A and Grade B milks. In the case of Grade C milk it appears that the counting of a hundred microscopic fields affords a sufficient sampling process on which may be based an estimate of bacterial numbers with a fair degree of accuracy. Counts of a hundred fields in Grade D milk should produce quite accurate estimation of numbers of organisms. These statements are based on judgment of the general statistical situation in the sampling rather than on exact mathematical statements.

References.

1. Breed, R. S., The determination of the number of bacteria in milk by direct microscopical examination. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. 1911. S. 337—340.) — 2. Slack, Francis H., The microscopic estimate of bacteria in milk. (Technology Quarterly. Vol. 19. 1906. p. 1—4.) Slack, Francis H., Die mikroskopische Schätzung der Bakterien in der Milch. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. S. 537.) — 3. Prescott, S. C., and Breed, R. S., The determination of

the number of body cells in milk by a direct method. (Amer. Journ. Pub. Hyg. Vol. 20. [N. S. 6.] 1910. p. 663—664.) Prescott, S. C., and Breed, R. S., The determination of the number of body cells in milk by a direct method. (Journ. of Inf. Dis. Vol. 7. 1911. p. 632—640.) — 4. American Public Health Association: Standard Methods of Milk Analysis. 1927. — 5. American Association of Medical Milk Commissions: Certified Milk Conferences held in 1930. — 6. United States Public Health Service: Report of Committee on Standard Milk Ordinance, U. S. Public Health Reports. Vol. 41. 1926. No. 31. — 7. Wilson, G. S., The proportion of viable bacteria in young cultures with especial reference to the technique employed in counting. (Journ. of Bact. Vol. 7. 1922. p. 405.) — 8. Brow, James D., A comparison of the microscopical method and the plate method of counting bacteria in milk. (New York Agr. Exp. Sta. Bul. No. 373. 1914.) — 9. Allen, Paul W., A new microscopic method of counting bacteria adaptable to all grades of raw and pasteurized milk. (Journ. Inf. Dis. Vol. 22. 1918. p. 245—251.) — 10. Robertson, A. H., and Schacht, F. L., Milk and Cream: Determination of Bacteria. (New York Agr. Bul. No. 257. 1931.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Pringsheim, E. G., Julius Sachs, der Begründer der neueren Pflanzenphysiologie 1832—1897. Jena (Gustav Fischer) 1932. 302 S., mit 13 Taf.

Vor kurzem sind 100 Jahre seit der Geburt von Julius Sachs verflossen und es war ein guter Gedanke des Verf.s, gerade zu diesem Zeitpunkt ein Lebensbild von ihm erscheinen zu lassen. Diese Aufgabe war nicht leicht, denn das Bild von Sachs ist schwierig in der richtigen Weise wiederzugeben. In der Hauptzeit seiner Arbeit von seinen Zeitgenossen als ganz großer Forscher erkannt, vernebelte sich später sein Bild dadurch, daß er sich in sich zurückzog und verbittert war. Erfreulicherweise tritt aber seine machtvolle Persönlichkeit in der neueren Zeit wieder klarer in den Vordergrund und das vorliegende Werk, das von einer großen Hingabe und Vertiefung in den Gegenstand zeugt, wird mit dazu beitragen, ein richtiges Bild von dem Menschen und Forscher der Geschichte zu überliefern.

Die richtige Darstellung des Menschen ist nur möglich gewesen durch die Beiträge der Tochter, zum Teil auch durch den Briefwechsel von S. mit Hugo Thiel, den langjährigen geistigen Leiter des preußischen Landwirtschaftsministeriums, der der erste Schüler S.s war.

Die wissenschaftliche Bedeutung von S. ist an Hand seiner Arbeiten aufgezeigt, die eine eingehende kritische Würdigung erfahren und in einzelnen Kapiteln geordnet den Hauptteil des Buches darstellen. Man muß dem Verf. dankbar sein, daß er den späteren Generationen ein ungeschminktes Lebensbild dieses Altmeisters botanischer Wissenschaft geschenkt hat.

Appel (Berlin-Zehlendorf).

Rippel, A., Vorlesungen über Boden-Mikrobiologie. VIII + 161 S. Berlin (Julius Springer) 1933. Preis 6.90 RM.

„Das vorliegende Büchlein stellt die Fortsetzung der vor einigen Jahren erschienenen ‚Vorlesungen über theoretische Mikrobiologie‘ dar und bildet mit diesen zusammen eine Einheit, die das Gebiet umfaßt, das der Verf. in seinen Vorlesungen in Göttingen behandelt; zusammen mit den praktischen Übungen bilden sie den Rahmen der für die Promotion in landwirtschaftlicher Bakteriologie als Haupt- und Nebenfach (für Landwirte, Biologen, Pharmazeuten, Chemiker) notwendigen Kenntnisse. Die Teilung ist

nicht so zu verstehen als ob theoretische Fragen in der Boden-Mikrobiologie überhaupt nicht behandelt würden. Sie erscheinen hier nur in anderer, nämlich in der angewandt-ökologischen Betrachtungsweise."

In der 1. Vorlesung wird die Bedeutung der Mikrobiologie des Bodens behandelt, in der 2. die Methodik der mikrobiologischen Bodenuntersuchung und in der 3. die Verbreitung der Mikroorganismen im Boden. Die 4. bis 18. Vorlesung umfaßt den Kreislauf des Kohlenstoffs, des Stickstoffs, des Schwefels und des Eisens. In den folgenden 3 Vorlesungen wird auf die Bildung und Zersetzung der Humusstoffe eingegangen, in der 22. und 23. auf die mikrobiologische Beeinflussung des Bodens, in der 24. wird die Bestimmung der Bodenfruchtbarkeit vermittels mikrobiologischer Methoden, in der vorletzten die Mikrobiologie des Wassers und in der 26. endlich die Konservierung organischer Substanz erläutert.

Mit anerkennenswerter Klarheit und stets sachlicher Kritik wird hier auf engem Raum und dennoch erschöpfend ein Überblick gegeben über unsere derzeitigen Kenntnisse der Bodenmikroben, ihrer physiologischen Leistungen und ihrer unverständlicherweise selbst in Fachkreisen viel zu wenig gewürdigten Bedeutung für die Landwirtschaft. Die Aufmerksamkeit nicht nur der Studierenden, sondern auch der Altakademiker der Naturwissenschaften, Chemie und Landwirtschaft sei deshalb auf dieses vorzügliche Büchlein gelenkt. Stapp.

Maurizio, A., Geschichte der gegorenen Getränke. VIII + 262 S., mit 19 Abb. Berlin (Paul Parey) 1933. Geb. 18.— RM.

Von den 16 Kapiteln, in die der Inhalt des Buches aufgeteilt ist, seien nur einige erwähnt, um schon damit zu zeigen, daß hier eine geschichtliche Abhandlung vorliegt, die nicht allein für den Gärungsfachmann von Bedeutung ist, sondern darüber hinaus die Aufmerksamkeit aller Naturwissenschaftler, Chemiker und Ethnologen verdient: Die Rauschmittel samt dem Alkohol vor der Entdeckung des Feuers. — Das Anfachen des Feuers. Die Töpferei und der Alkohol. — Die gegorenen Getränke in den urgeschichtlichen Zeiten. — Der Kumyß und andere Getränke aus Milch. — Die gegorenen Getränke im entwickelten Landbau. — Überreste der Urbrauerei, das Bier im Altertum und das Hopfenzeitalter. — Die wichtigsten Getränke aus zuckerhaltiger Frucht. — Stärkehaltige Gärstoffe der uralten oder gelegentlichen neuen Brauerei und Brennerei.

Vieles ist natürlich in der historischen Ableitung mangels genauer Quellenangaben lückenhaft und unvollständig, manche wiedergegebene Beobachtung und ihre Schlußfolgerung sind wohl auch etwas reichlich subjektiv, dennoch verbleibt eine Fülle durch Literatur gut belegter, wertvoller und interessanter Darstellungen. Stapp.

Richter, O., Reinkultur. (Handwörterb. d. Naturwissensch. 2. Aufl.) (Fischer, Jena. 1933.)

Nach einer Festlegung der Begriffe Reinkultur, Spezies-Reinkultur, Doppel- oder gemischte Kultur werden die verschiedenen Reinkulturverfahren geschildert (Kochsches Plattenverfahren mit Gelatine, Agar, Kieselsäure; Tröpfchen-, Tuschpunkt- und Mikroplattenmethode; Förderung der Reinkultur dadurch, daß man für die einzelnen Arten spezifisch günstige Lebensbedingungen schafft, wie Abwesenheit von O_2, bestimmte Temperaturen,. bestimmte Zusammensetzung des Nährbodens, rein anorganischer

Nährboden, usw.). Darauf wird die Leistung der Reinkultur eingehend geschildert und zwar in physiologischer und in systematischer Beziehung. Die Arbeit wird dadurch zu einem Überblick über das gesamte Gebiet der Mikrobiologie, der auch die neuesten Forschungsergebnisse berücksichtigt. Bei den Algen werden besonders die Ernährungsprobleme, die sich auf die Assimilation organischer Substanzen, des Elementarstickstoffes u. ä. beziehen, behandelt. Bei den Bakterien spielen die Reinkulturen, außer bei ernährungsphysiologischen Fragestellungen auch in der praktischen Anwendung, sowohl in der medizinischen, als auch in der technischen Bakteriologie eine ungemein wichtige Rolle. Rotte- und Zellulose-Bakterien, die Kleinwesen des Stickstoffkreislaufes und verschiedene physiologisch interessante Bakterien, wie die Purpur-, Eisen-, Kalk-, Leucht-, Wasserstoff-, Kohlenwasserstoffbakterien, Agarlöser und andere werden behandelt. Es folgt die Bedeutung der Reinkulturen bei Myko- und Myxobakterien, bei Myxomyceten und Actinomyceten. Unter den letzteren ist besonders der Act. oligocarbophilus wegen seiner Widerstandsfähigkeit gegen außerordentlich hohe Salzkonzentrationen und seiner Fähigkeit N_2 und CO_2 zu assimilieren, interessant. Die Bedeutung der Reinkultur bei Hefen, deren Studium heute eine eigene Wissenschaft geworden ist, und ihre Anwendung in der Industrie werden nur kurz berührt. Darauf folgen die Besprechungen anderer Eumyceten, unter denen die Reinkultur manche Fragen der Systematik geklärt hat (Zugehörigkeit des Aspergillus zu den Ascomyceten u. a.). Mit der Besprechung der Reinkultur bei Moosen und höheren Pflanzen, und der Symbiose (Flechten; Algen mit Moosen, Farnen und höheren Pflanzen; Algen und Pilze mit Tieren), schließt dieser Abschnitt. In weiteren Abschnitten werden die Bedeutung der Reinkultur für die Fragen der „subvisiblen" Kleinlebewesen und verschiedene Fragestellungen der Systematik erörtert. Größerer Raum ist den Lehren vom Pleomophismus und von der Pleomorphie gewidmet. Während die Pleomorphie, das heißt die Ansicht, eine Art von Kleinwesen könne sich in andere umwandeln, als gefährlicher Irrtum zu verwerfen ist, hat der Pleomorphismus, die Schilderung verschiedener Lebensformen, die eine bestimmte Art in ihrem Entwicklungskreise durchläuft, volle Berechtigung (Lebenskreise und Symplasmabildung nach Löhnis). Nach Behandlung weiterer systematischer Fragen (Stellung der Eisenbakterien, Purpurbakterien, der Fungi imperfecti usw.) werden die Mängel der Reinkulturen besprochen (die Organismen leben, enthoben jedes Konkurrenzkampfes, unter unnatürlichen Bedingungen). Diese Mängel werden aber durch die Vorteile aufgewogen und können dadurch beseitigt werden, daß man den rein gezüchteten und in Reinkultur studierten Organismus nachher stufenweise mit jedem einzelnen seiner natürlichen Begleiter und mit allen gemeinsam beobachtet.

Eine Erwähnung der von Tieren in der Natur erzielten Reinkulturen (Ameisen, Ambrosia-Gallmücke, Borkenkäfer) schließt die Abhandlung.

Bojanovsky (Brünn).

Fred, E. B., Baldwin, I. L., and Mcboy, E., Root nodule bacteria and leguminous plants. (University of Wisconsin studies in science Nr. 5. XXII + 343 S. Madison 1932. Preis $ 3.—.)

Eine außerordentlich verdienstvolle Monographie über ein Spezialgebiet der landwirtschaftlichen Bakteriologie, das als das bestbearbeitetste und in bezug auf die praktische Auswertung unstreitig auch als das erfolg-

reichste angesehen werden muß! Trotzdem ist es nicht verwunderlich, am Schlusse vieler Abschnitte Eingeständnisse zu lesen wie etwa das: „In spite of the numerous contributions to this problem there is much still to be learned".

Die Literatur, die allein 65 Seiten umfaßt, ist mit seltener Gründlichkeit verarbeitet. Mit der Geschichte, der Verbreitung und dem Werte der Leguminosen in der Landwirtschaft beginnend, werden sodann die Charakteristika der Leguminosen, das Vorkommen von Knöllchen bei ihnen (und auch bei Nicht-Leguminosen), die Isolierung der Bakterien aus den Knöllchen, die Morphologie sowie die kulturellen, biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften der Bakterien, ihre Lebensdauer und ihre verwandtschaftlichen Beziehungen besprochen. Es folgen dann Abschnitte über die Entstehung der Knöllchen, über Beziehungen der Wirtspflanzen zu den Bakterien, über Faktoren, die die Knöllchenbildung beeinflussen, über die ökonomische Bedeutung des Leguminosenanbaues und über natürliche und künstliche Impfung. Zum Schluß werden Anleitungen gegeben für den Gebrauch künstlicher Kulturen, den Bezug und die Kontrolle derselben.

Es ist aus Raummangel natürlich nicht möglich, auf den Inhalt der Abschnitte im einzelnen einzugehen; es seien nur wenige wichtige Feststellungen herausgegriffen. So glauben z. B. die Verff. auf Grund der vorhandenen Literaturangaben und eigener noch nicht abgeschlossener Versuche, daß die „Bakteroiden" gewöhnlich unfähig sind zur Reproduktion. Sie vertreten ferner den Standpunkt, daß keine oder nur geringe Beziehungen bestehen zwischen Bakteroidenbildung und Stickstoffixierung. Bezüglich eines „Life-cycle" der Knöllchenbakterien enthalten sie sich klugerweise einer eigenen Stellungnahme.

Erwähnenswert erscheint die Berechnung des jährlichen Verbrauchs an Knöllchenbakterienkulturen zu Impfzwecken in den Vereinigten Staaten auf annähernd 1 500 000, dessen Handelswert etwa $ 1 000 000 betrage.

Den Verff. kann zu dem Erfolge ihrer wirklich mühevollen Arbeit vollste Anerkennung ausgesprochen werden. Stapp.

Lüstner, G., Krankheiten und Feinde der Zierpflanzen im Garten, Park und Gewächshaus. XVI + 266 S., mit 171 Abb. Stuttgart (Eug. Ulmer) 1933. Preis geb. 5.80 RM.

In erster Linie für den Praktiker geschrieben, bringt das Büchlein in alphabetischer Reihenfolge der Zierpflanzen sämtliche Krankheiten und Schädlinge dieser, wobei knapp und allgemeinverständlich das Krankheitsbild, meist auch der Erreger beschrieben und stets die entsprechenden Bekämpfungsmaßnahmen angegeben werden. Aus diesem Grunde und wegen seiner zahlreichen instruktiven Abbildungen sowie seines wirklich niedrigen Preises kann den interessierten Kreisen die Anschaffung nur empfohlen werden. Stapp.

Peters, G., Blausäure zur Schädlingsbekämpfung. Heft 20 der Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge. Stuttgart (Ferd. Enke) 1933. 74 S., 21 Abb. Geh. 6,20 RM., für Abonnenten der Sammlung 5.60 RM.

Ein klar und flüssig geschriebenes Buch, das in einzelnen Kapiteln Geschichte der Blausäureanwendung, Herstellung, Giftigkeit und wirtschaft-

liche Bedeutung der Blausäure und ihrer Derivate, die einzelnen Blausäure-Vergasungsverfahren und Gasschutz, Gasrestnachweis, Vergiftungsfälle und Gegenmittel behandelt. Die vorzügliche, reichlich mit Literaturnachweisen versehene Zusammenstellung wird allen mit der Hygiene sich beschäftigenden Ärzten und Gesundheitsbehörden sowie auch den in der Ungezieferbekämpfung, im Vorratsschutz und Pflanzenschutz tätigen Biologen, Chemikern und Desinfektoren willkommen sein.

Trappmann (Berlin-Dahlem).

Oppenheimer, C., Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. II. Auflage Ergänzungswerk. Erster Band. 1154 S., mit 40 Abb. Jena (G. Fischer) 1933. Brosch. 74 RM., geb. 82 RM.

Der Herausgeber übertreibt sicherlich nicht, wenn er im Vorwort feststellt: „Die Anzahl der Veröffentlichungen auf dem Gebiete der Biochemie scheint alljährlich in geometrischer Progression zuzunehmen; es ist kaum möglich, diese Massenproduktion zu überschauen, der leider eine zahlenmäßig entsprechende Ausbeute an wirklich wichtigen Ergebnissen nicht zu verdanken ist. . . . Diese papierene Sintflut . . . macht einerseits periodische Zusammenfassungen der Forschungsergebnisse durch Spezialsachverständige unentbehrlich, erschwert aber diesen wie den Herausgebern solcher Sammelberichte die Arbeit ins Ungemessene."

Da zur Zeit eine Neuauflage des bekannten Handbuches nicht in Frage kommt, hat der Herausgeber den Ausweg gewählt, nur Ergänzungen und Erweiterungen zu den Einzelabschnitten des Hauptwerkes zu bringen und das vorhandene Tatsachenmaterial dabei doch zeitlich und sachlich so zu beschränken, daß einerseits die Form den berechtigten Forderungen noch entspricht, anderseits das Ergänzungswerk, das in 3 Bänden eine Einheit mit dem Hauptwerk darstellen soll, übersichtlich und geldlich erschwinglich wird.

Der vorliegende erste Band dieses Ergänzungswerkes ist als Vervollständigung von Band I—III des Hauptwerkes anzusehen. Schon die Auswahl der entsprechenden Mitarbeiter bürgt für die Zuverlässigkeit der literarisch-kritischen Darstellungen. Gerade dieser Teil bietet den Mikrobiologen eine so enorme Fülle von neuen, besonders beachtenswerten biochemischen Ergebnissen, daß das Handbuch auch weiterhin als unbedingt notwendiges Rüstzeug seinen Platz in jeder mikrobiologischen Bücherei finden muß.

Stapp.

Allgemeines und Methodisches.

Yoshihara, R., Endonährboden als Isoliermittel für Enterokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 462—464.)

Enterokokken gedeihen auf Endonährboden, wenn 4 g statt 5 g Fuchsin (Originalvorschrift) auf 1000 ccm 3 proz. Agar zugegeben werden, so gut und typisch, daß man ihn zu ihrer Isolierung ebensogut wie zu ihrer Typenbestimmung verwenden kann. Verf. unterscheidet je nach Rötung der Kolonien 3 Arten von Enterokokken. Die Abgrenzung von den Milchstreptokokken soll nicht gelingen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Schiller, J., Über erzwungene Antagonisten. [Zur Frage über die tuberkulöse Bazillämie.] (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 139—144.)

Die Ergebnisse (Vermehrung säurefester Stäbchen im Hungermilieu auf Kosten von Hefen) sprechen dafür, daß der erzwungene Antagonismus ein Mittel darstellt, schwer angehende Bakterien zu kultivieren.

Rodenkirchen (Duisburg).

Gottsacker, E., Über den Nachweis von Bacterium coli mit Hilfe der Indolprobe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 517—520.)

Zum Nachweis von Indol mit Hilfe von Nitroprussidnatrium, von allen Reaktionen die einzige spezifische, wird folgendes Vorgehen empfohlen: Zu 5 ccm des bebrüteten Substrates sind 0,5 ccm einer 2proz. Nitroprussidnatrium-Lösung beizufügen, dann ebensoviel einer 20proz. Natronlauge und schließlich nach gutem Umschütteln Eisessig bis zur sauren Reaktion, wozu 0,5 ccm ausreichen. Die Nitroprussidnatrium-Lösung braucht nicht, wie Frieber vorschreibt, stets frisch bereitet zu werden; in brauner Flasche hält sie sich monatelang. — Als Nährlösung kommt in erster Linie die durch tryptischen Abbau des Fibrins gewonnene Trypsinbouillon in Betracht oder, falls man lieber vom fertigen Pepton ausgeht, die konzentrierte Nährlösung von Gersbach. Rodenkirchen (Duisburg).

Koblmüller, L. O. und Vierthaler, R. W., Über ein Gerät zum Isolieren von Keimen auf der Oberfläche fester Nährböden („Plattenmanipulator"). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 438—445.)

Das eingehend beschriebene Einzellkulturverfahren beruht auf der Übertragung des gewöhnlichen Plattenverfahrens ins Mikroskopische: Die grobe Platinnadel ist durch eine extrem feine Metallnadel ersetzt, weshalb das Auge einer Ergänzung durch das Mikroskop, die Hand einer solchen durch das Führungsgerät bedarf. Dadurch ist der gegen das gewöhnliche Plattenverfahren immer wieder erhobene Einwand beseitigt, daß man, mit der Platinnadel arbeitend, niemals wissen kann, ob das angestrebte Ziel der Reinzüchtung tatsächlich gelungen ist. Außerdem wird durch die Verfeinerung der Methodik auch das Anwendungsgebiet des Plattenverfahrens beträchtlich erweitert. — Die Apparatur liefert die Fa. Carl Reichert-Wien. Das verwendete Mikroskop muß mit starkem Trockensystem und möglichst mit Kreuzschlitten ausgerüstet sein.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hilgers, Ein erhitzbarer Abfüllapparat mit Dosierungsvorrichtung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 446—447.)

Der von der Fa. Primavesi, Magdeburg, Insleber Str., beziehbare Apparat besteht aus hitzebeständigem Glas, so daß auch Agarnährboden durch Vorbeiführen der Bunzenflamme flüssig gehalten werden kann und Sterilisierung des Apparates im Heißluftsterilisator bei 120—140° möglich ist. Rodenkirchen (Duisburg).

Bufe, E., Ein neuer luftdichter Gefäßverschluß. (Dtsch. Med. Wochenschr. Jahrg. 59. 1933. S. 1363—1364.)

Die üblichen Verschlüsse (eingeschliffener Glasstopfen oder aufgeschliffene Glaskappen) halten nur solange zuverlässig dicht, als der Sitz des Deckels mit dem Inhalt des Gefäßes nicht in Berührung kommt. Dies kann nach Angabe des Verf.s verhindert werden, wenn zwischen der Mün-

dung des Gefäßes und dem Deckelsitz eine oder mehrere umlaufende Rillen angeordnet werden. Der Verschluß eignet sich besonders für Standgefäße chemischer, bakteriologischer, biologischer, farbtechnischer u. dgl. Flüssigkeiten, die auf den Arbeitstischen der Laboratorien gebraucht werden.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hills, O., A new method for collecting samples of insect populations. (Journ. econ. Entom. Vol. 26 4. 1933 8. p. 906—910, 1 pl.)

Für die Zählung von Insekten auf Pflanzen, wie sie zur Feststellung des „Massenwechsels“ derselben erfolgt, empfiehlt Verf. statt des Ketscherns den Gebrauch eines an einem Stock befestigten Gazekäfigs, der, unten offen, über die Pflanze gestülpt werden kann. Seitlich befindet sich ein Ärmel, durch den man hineinlangen kann, oben ein Fenster aus Cellophan. Sind sehr viele Insekten vorhanden, so werden sie mit einer Saugpipette oder einem elektrischen Vakuum-Sauger eingesammelt.

K. Friederichs.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Virtanen, A. J., v. Hausen, S. und Karström, H., Untersuchungen über die Leguminose-Bakterien und Pflanzen. XII. Mitteilung: Die Ausnutzung der aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen herausdiffundierenden Stickstoffverbindungen durch Nichtleguminosen. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 106—117.)

Aus den Wurzelknöllchen von Leguminosen diffundieren organische N-Verbindungen heraus, die von gleichzeitig anwesenden Nichtleguminosen direkt verwertet werden können. In sterilen Sandkulturen knöllchentragender Erbsen konnten die herausdiffundierten organischen N-Verbindungen angesammelt und chemisch hauptsächlich als Aminosäuren charakterisiert werden. Amide und flüchtige Aminbasen fanden sich nur in geringer Menge, Ammoniak und Nitrate fehlten stets. Gleichzeitig mit den Erbsen in den Sand eingesäte Gerste wuchs ohne weitere N-Nahrung üppig, konnte also organische N-Quellen ausnutzen. Verschiedene organische N-Verbindungen wurden in sterilen Sandkulturen auf ihre Ausnutzbarkeit durch Weizen, Gerste und verschiedene Leguminosen geprüft. Asparaginsäure konnte von den Leguminosen ausgenutzt werden, von den Gramineen jedoch nicht.

R. Koch (Berlin).

Müller, D., Der Abbau von Methylalkohol, Formaldehyd und Ameisensäure durch lebende und getötete Essigbakterien. (Biochem. Z. Bd. 254. 1932. S. 97—101.)

Bact. Pasteurianum oxydiert in lebendem Zustande Methylalkohol beinahe vollständig. Formaldehyd wird nur in ganz geringer Konzentration nahezu vollständig oxydiert. Ca-Formiat ist nur langsam verbrennbar. Durch Aceton abgetötete Bakterien oxydieren Methylalkohol ebenfalls mit großer Intensität. In guten Präparaten wird etwa 3% von der Wirkung der lebenden Bakterien erreicht. Als Nebenprodukt entsteht Formaldehyd. Dieser Stoff ist durch das Acetondauerpräparat der Essigbakterien schwach oxydierbar. Ameisensäure wird nicht angegriffen.

R. Koch (Berlin).

Meyer, K., Über den Einfluß der Monojodessigsäure auf die bakterielle Milchsäurebildung. (Biochem. Z. Bd. 256. 1932. S. 105—114.)

In Versuchen an einem Enterokokkenstamm und einem nicht näher bezeichneten Milchsäurebakterium wurde festgestellt, daß Monojodessigsäure schon in solchen Konzentrationen hemmend auf die bakterielle Milchsäurebildung aus Glukose wirkt, die weit unter der Abtötungs- und Schädigungsgrenze liegen. Andere Gifte wie Formaldehyd oder Phenol beeinträchtigen die Milchsäurebildung nur in dem Maße wie sie zellschädigend wirken. Die hemmende Wirkung der Monojodessigsäure ist also bei der bakteriellen Milchsäurebildung ähnlich wie bei der Milchsäurebildung des arbeitenden Muskels. R. Koch (Berlin).

Chargaff, E. und **Dieryck, J.**, Über den Lipoidgehalt verschiedener Typen von Tuberkelbazillen. III. Mitt.: Zur Chemie der Bakterien. (Biochem. Z. Bd. 255. 1932. S. 319—329.)

Die quantitative Bestimmung der Gesamtlipoide sowie der Fett-, Wachs- und Phosphatidfraktionen verschiedener Typen von Tuberkelbazillen lieferte bei Heranzüchtung der Kulturen unter gleichen Bedingungen und Aufarbeitung der Bakterien nach einem genauen Schema gut übereinstimmende Werte. Die verschiedenen Typen der Tuberkelbakterien sind auf diese Weise chemisch sicher charakterisierbar. R. Koch (Berlin).

Großmann, H., Untersuchungen zur Frage des sogenannten Bacterium typhi flavum. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 508—517.)

Weitgehende Bestätigung der von Dresel und Mitarbeitern bezüglich des Bact. typhi flavum erhobenen Befunde. Auch Verf. gelang die Umzüchtung von Gelbkeimen in solche mit allen wesentlichen Eigenschaften des Bact. typhi. Daraus wird gefolgert, daß zwischen manchen Gelbkeimen und echten Typhusbakterien verwandtschaftliche Beziehungen bestehen. Rodenkirchen (Duisburg).

Gundel, M. und **Mayer, M.**, Über den Bakterienantagonismus innerhalb einer Art bei den Pneumokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 305—323.)

In den oberen Atmungswegen des Menschen finden sich relativ häufig gleichzeitig zwei und mehr Pneumokokkentypen. Durch den Tierversuch an der weißen Maus gelingt der Nachweis des Nebeneinandervorkommens mehrerer Typen im Untersuchungsmaterial nur ausnahmsweise durch den ersten Tierversuch, da sich in vivo sofort antagonistische Vorgänge abspielen. Der Tod der Versuchstiere wird fast ausnahmslos durch einen Pneumokokkentyp bedingt. Bei diesem Bakterienantagonismus spielen folgende Faktoren eine Rolle: 1. der quantitative Faktor der Menge, 2. der qualitative Faktor der Virulenz und 3. ein Faktor, der mit dem Begriff der besonderen „biologischen Aktivität“ oder „Konkurrenzfähigkeit“ umschieben wird. Rodenkirchen (Duisburg).

Schreder, K., Brunner, R. und **Hampe, R.**, Pseudomonas Lindneri-Kluyver (Termobakterium mobile Lindner). II. Mitt. Seine aerobe und anaerobe Gärung mit besonderer Berücksichtigung seiner Bildung von Säuren und

anderen Gärungsprodukten. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 233—237 u. 243—245.)

Die durch Termobacterium mobile bei der aeroben und anaeroben Gärung von Zucker auf anorganischen Nährböden gebildeten Säuren sind Kohlensäure, Milchsäure, Essigsäure und geringe Mengen Bernsteinsäure. Ameisensäure, Propionsäure und Homologe, Apfelsäure, Oxalessigsäure, Wein- und Zitronensäure konnten nicht nachgewiesen werden. Die Essigsäurebildung war sowohl bei der aeroben als auch bei der anaeroben Gärung weitaus stärker als die Milchsäurebildung. Für die Umkehrung dieses Verhältnisses gegenüber den früheren Berichten wird eine Veränderung des physiologischen Zustands des Bakteriums verantwortlich gemacht. Die Bildung von Essigsäure ist bei der aeroben Gärung natürlich bedeutend stärker als bei der anaeroben, wurde jedoch auch bei letzterer einwandfrei nachgewiesen. Für Milchsäure konnte diesmal eine diesbezügliche Gesetzmäßigkeit nicht nachgewiesen werden. Die Gesamtsäurebildung nimmt mit steigender zur Vergärung gelangender Zuckermenge nur in sehr geringem Maße zu bzw. bleibt praktisch gleich. Außer den erwähnten Säuren konnten bei der Tm-Gärung noch Azetaldehyd, Glyzerin, Ester und höhere Alkohole nachgewiesen werden. Die Bildung von Azetaldehyd und höheren Alkoholen ist nur auf die aerobe Gärung beschränkt. Die vorkommenden Mengen dieser Stoffe sind jedoch meist so gering, daß sie einer quantitativen Bestimmung nicht zugänglich sind. Methylalkohol wurde nicht vorgefunden.

Die aufgefundenen Gärungsprodukte sind ein Beweis für das Vorhandensein eines ähnlich wie bei der Hefe wirkenden Zymasekomplexes. Die Zahl und auch die Menge der vorgefundenen Nebenprodukte ist bei der Tm-Gärung geringer als bei der Hefegärung.

Die erwähnten Verhältnisse gelten im wesentlichen auch für die Vergärung von Würze. Dabei wurde allerdings auch noch Apfelsäure nachgewiesen und festgestellt, daß in bezug auf die Bildung von Essigsäure kein so großer Unterschied zwischen Aerobie und Anaerobie herrscht.

Heuß (Berlin).

Crosier, W., Culture of Phytophthora infestans. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 713—720, 1 fig.)

Eine Verunreinigung von Kulturen von Phytophthora infestans mit Bakterien kann man dadurch vermeiden, daß man die Kulturen bei niedriger Temperatur oder bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit hält. Sporenbildung kommt bei 3—26° C vor. Hohe Luftfeuchtigkeit ist wichtig für die Bildung und Erhaltung der Lebensfähigkeit der Sporangien, die auch durch Halten bei niedriger Temperatur verlängert wird. Das Temperaturoptimum für die indirekte Keimung der Sporangien liegt bei 12—13° C, das für die direkte ist 24° C. Die Sporangien keimen nur in Gegenwart von Wasser. Die indirekte Keimung wird beschleunigt durch Zusatz von Vaselin, Bentonit-Lehm und feinverteilte Infusorienerde. Schwärmsporen werden gebildet, wenn die Sporensuspension bei 3° C gehalten wird. Ein kleiner Prozentsatz der Keimschläuche der Schwärmsporen dringt in das Gewebe des Wirts in 1½—3 Std. ein. Das Eindringen erfolgt sehr schnell bei 20—25° C. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Nielsen, N. und Hartelius, V., Über die Bildung eines Wuchsstoffes (Gruppe B) auf chemischem Wege. (Biochem. Z. Bd. 256. 1932. S. 2—10.)

Durch Erwärmung von Zuckerlösungen mit verschiedenen organischen Säuren oder deren Ammoniumsalzen in Gegenwart von Filtrierpapier entsteht ein Wuchsstoff, der die Trockensubstanzproduktion von Aspergillus niger befördert. Die Wirkung des Filtrierpapiers ist auf gewisse Aschebestandteile zurückzuführen. Der auf chemischem Wege gebildete Wuchsstoff scheint frei von Stickstoff zu sein. Er ist ebenso wie der von Rhizopus suinus gebildete Wuchsstoff unlöslich in Äther und nicht durch H_2O_2 zerstörbar. R. Koch (Berlin).

Chrząszcz, T. und **Tiukow, D.,** Die Abhängigkeit der Citronen- bzw. Oxalsäureanhänfung von der Stickstoffnahrung bei Schimmelpilzen. (Biochem. Z. Bd. 242. 1931. S. 137—148.)

Die Anhäufung der Zitronensäure durch Aspergillus niger sowie durch verschiedene Penicillien schwankt mit der Menge und Art der in der Nährlösung gebotenen Stickstoffquelle. Obwohl die Zitronensäure als Zwischenprodukt des Kohlehydratabbaues anzusehen ist, scheint die Eiweißsynthese irgendwie mit der Zitronensäureanhäufung zusammenzuhängen. Verff. konnten jedoch zeigen, daß keine direkten Beziehungen zwischen Stickstoff- und Kohlehydratstoffwechsel bestehen, daß aber die Menge und Art der Stickstoffnahrung durch mehr oder weniger deutliche Förderung der Pilzentwicklung auch die Bildung und Anhäufung der Zitronensäure indirekt beeinflußt. Der Stickstoffverbrauch des Pilzes ist unabhängig von der Zitronensäureanhäufung. Die Stickstoffkonzentration und die Art der N-Quelle im Nährboden sind dagegen von Bedeutung für die Stärke der Säureanhäufung. Oxalsäure wird nur von manchen Schimmelpilzen als Produkt des Peptonabbaues gebildet. R. Koch (Berlin).

Boysen-Jensen, P., Über die Bildung und biologische Bedeutung des Wachstumsregulators bei Aspergillus niger. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 270—280.)

Aspergillus niger bildet auch in flüssigem Nährsubstrat einen Stoff, der das Wachstum der Avena-Coleoptile fördert. Dieser Wachstumsregulator scheint ein Stoffwechselprodukt zu sein, dessen Bildung von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig ist. Die Entstehung des fraglichen Stoffes ist abhängig von der Anwesenheit gewisser Aminosäuren wie Leucin, Lysin, Tyrosin, Phenylalanin, Histidin und Tryptophan. Notwendig ist ferner, daß die Kulturflüssigkeit sauer reagiert. Verf. gelang die Darstellung eines stark aktiven Rohpräparates des Wachstumsregulators. R. Koch (Berlin).

Glimm, E. und **Nitzsche, M.,** Über die Entstehung der Äpfelsäure bei der alkoholischen Gärung in Gegenwart von Asparagin und Asparaginsäure. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 318—335.)

Bei Vergärung ammonsalzhaltiger Zuckerlösungen durch Preßhefe entsteht keine Äpfelsäure. Werden an Stelle des Ammonsalzes 0,3—0,5% Asparagin als Stickstoffquelle verwendet, so wird stets Äpfelsäure gebildet und zwar erscheint regelmäßig etwa der 10. Teil des verbrauchten Asparagins als Äpfelsäure wieder. Vergärt man reine Zuckerlösungen, so entsteht ebenfalls Äpfelsäure. In letzterem Falle wird wahrscheinlich das Hefeeiweiß über Asparagin zu Äpfelsäure abgebaut. Verfügt die Hefe in Gegenwart

von Ammonsalz über genügende Stickstoffmengen, so unterbleibt der Zerfall des Hefeeiweiß. Es bildet sich also keine Äpfelsäure. Asparaginsäure wird unter den genannten Umständen zwar fast ganz verbraucht, Äpfelsäure entsteht aber nur in geringem Maße. In der Lösung sind Aminostickstoff und Ammoniak vorhanden, welche von der sogar stickstoffarmen Hefe nicht verwertet werden. Welche Stoffe neben Äpfelsäure aus dem Asparagin und der Asparaginsäure entstehen, läßt sich nicht bestimmt sagen. Verff. diskutieren diese Frage, die Versuche führen aber zu keinem eindeutigen Ergebnis. Weitere Einzelheiten im Original. R. Koch (Berlin).

Harden, A., Über die Beschleunigung der Gärung durch Hefepräparate durch Zusatz von Arseniat. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 65—68.)

Die Abspaltung von Phosphat aus Hexosediphosphat mittels Hefepräparaten erfolgt teilweise durch direkte Vergärung zu CO_2, Alkohol und Phosphat. Ein anderer Teil wird durch Phosphatasewirkung hydrolytisch in Zucker und Phosphat gespalten. Zusatz von Arseniat beschleunigt die Vergärung von Hexosediphosphat durch Zymin (Acetonhefe). In Anwesenheit von Arseniat und Phosphat zusammen ist theoretisch eine Steigerung der Gärgeschwindigkeit zu erwarten, die der mit Phosphat maximal allein erreichbaren entspricht, vermehrt um die halbe Steigerung durch die direkte Arseniatwirkung. Die beobachteten Werte lagen jedoch stets etwas niedriger als die berechneten. R. Koch (Berlin).

Simon, E., Beobachtungen über Gärungshemmung durch Halogenverbindungen. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 218—221.)

Es sollte festgestellt werden, ob außer den Halogenfettsäuren noch andere Halogenverbindungen hemmend auf die alkoholische Gärung wirken. Geprüft wurden Monojodessigsäure, Monojodaceton, Tribromäthylalkohol, Acroleindibromid, Glyzerin-α-mono-chlorhydrin, Monojodacetaldehyd-Diäthylacetal, Monojodacetaldehyd, 2,3-Dibrompropanol, β-Jodäthylalkohol und Glyzerin-α-monojodhydrin. Gärungshemmend wirkten nur Monojodaceton (1 : 5000), Monojodacetaldehyd (1 : 1000) und Acroleindibromid (1 : 1000). R. Koch (Berlin).

Meißel, M. N., Kombinierte Wirkung von Steinkohlenteer und ultravioletten Strahlen auf die Entwicklung der Hefe. (Bull. Acad. Sc. URSS., Cl. d. sc. math. et nat. Nr. 6. 1933. p. 844—853.) [Russisch.]

Hefepilze, Saccharomyces cerevisiae und Saccharomycodes Ludwigii, wurden auf Bierwürze mit Zusatz von Steinkohlenteer kultiviert. Die Kulturen sind in solchem Fall von brauner Farbe, indem die Zellmembranen von Teer gefärbt werden und der Teer sich in den Öltröpfchen der Hefe löst. Unter dem Einfluß des Steinkohlenteers findet bedeutende Zunahme der Fettablagerung in den Zellen statt. Bei andauernder Kultivierung von Sacch. cerevisiae entstanden Saltanten mit eigenartiger Sprossung: auf der Zelle erscheinen Sprosse, von denen einige mit der Mutterzelle mittels eines längeren oder kürzeren Kanals vereinigt sind, der dem Kopulationskanal ähnlich ist. Die Größe der Zellen ist sehr verschieden. Die Fähigkeit zur Saltantenbildung tritt bei Bestrah-

lung der auf Steinkohlenteer-Nährböden kultivierten Hefe mit ultravioletten Strahlen noch stärker auf. Bei diesen Bedingungen kultivierte neue Rassen von Sacch. cerevisiae bilden hauptsächlich faltige, braune, trockene Kolonien, die aus verlängerten, myzelienähnlichen Formen bestehen.

A. Imšenecki (Leningrad).

Philipson, T., Beobachtungen über Hefezuwachs. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 244—250.)

Hefe ist in rein synthetischen Nährlösungen bei schwacher Aussaat nur dann vermehrungsfähig, wenn geringe Mengen unbekannten Wuchsstoffes hinzugefügt werden. Ob dieser wachstumsfördernde Faktor verwandt oder identisch mit den pflanzlichen Wuchsstoffen Auxin, Rhizopin oder dergleichen ist, konnte bisher nicht entschieden werden. Bis zur Klärung dieser Frage bezeichnet Verf. alle pflanzlichen Wuchsstoffe mit den Buchstaben B. P. Unter bestimmten Bedingungen herangezüchtete Stämme einer obergärigen Bäckerhefe und einer untergärigen Bierhefe wurden in synthetischer Nährlösung auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen wuchsstoffhaltigen Extrakten untersucht. Von den Auszügen aus grünen Erbsen, Gerste, Tee, Harn und Hefe war der Erbsenextrakt auf die Trockensubstanz berechnet weitaus am wirksamsten. Daher stellte Verf. aus grünen Erbsen durch Extraktion, Umfällung usw. ein Rohpräparat des Wuchsstoffes her, dessen Wirksamkeit während der Reinigung fortlaufend mit der Hefezuwachsmethode geprüft wurde. Der B. P.-Bedarf verschiedener Heferassen wurde an Hand dieses Präparates verglichen. R. Koch (Berlin).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Zuckerkandl, F. und Messiner-Klebermass, L., Die Umwandlung von Acetaldehyd durch Hefe. Beitrag zur Kenntnis der Co-Zymasewirkung. II. Mitt. (Biochem. Z. Bd. 255. 1932. S. 330—343.)

Gewisse iminbildende Substanzen zeigen bei der Glukosevergärung durch Hefe ein ähnliches Verhalten wie die Co-Zymase. Die Wirkung dieser Substanzen beruht darauf, daß aus dem Zuckermolekül Wasser abgespalten wird, wobei der Zucker in zwei Dreikohlenstoffreste zerfällt (Methylglyoxal), deren Gegenwart Voraussetzung für die Reduktion des Azetaldehyds zu Alkohol ist. Die Co-Zymasewirkung ist hemmbar durch Natriumfluorid oder Jodessigsäure, die Reduktion zugesetzten Azetaldehyds unterbleibt in diesem Falle. Einerseits durch Imingruppen enthaltende Stoffe, andererseits durch Phosphatzusatz läßt sich die Bildung der Dreikohlenstoffkörper und damit die Aldehydreduktion wieder regenerieren. Enzymreaktionen der Hefe wie die Invertase-, die Carboxylasewirkung und die Verwandlung von Äpfelsäure in Fumarsäure oder umgekehrt, die an keinerlei Co-Fermentwirkung gebunden sind, sind durch Natriumfluorid oder Jodessigsäure nicht hemmbar und werden durch Imingruppen nicht beeinflußt.

R. Koch (Berlin).

Gorr, G. und Wagner, J., Über das Amidspaltungsvermögen der Hefen. (Biochem. Z. Bd. 254. 1932. S. 1—4.)

Die untersuchten Brauerei- und Bäckerhefen enthielten sämtlich Asparaginase, und zwar war die Ammoniakentwicklung aus Asparagin bei den Trockenhefen erheblich kräftiger als bei den Frischhefen (Ansätze mit 50-proz. alkoholischer Phenollösung versetzt). Andere Amide wurden nicht gespalten. Torula utilis vermochte außer Asparagin noch Acetamid,

Propionamid und Laktamid zu zerlegen. Die übrigen Amide, wie Harnstoff, Formamid, Oxamid, Succinamid und Benzamid wurden von keiner der benutzten Hefen angegriffen. R. Koch (Berlin).

Friedmann, E., Quantitative Untersuchung über Acetessigsäureumsatz und β-Oxybuttersäurebildung durch Hefe. (Biochem. Z. Bd. 244. 1932. S. 57—68.)

Durch quantitative Untersuchung des Acetessigsäureumsatzes und der β-Oxybuttersäurebildung mittels gärender und nichtgärender Hefe konnte festgestellt werden, daß durch gärende Hefe innerhalb 8 Stunden die Umwandlung der Acetessigsäure in β-Oxybuttersäure beendet ist, während in Abwesenheit von Zucker die Acetessigsäure nur zu einem kleinen Teil in β-Oxybuttersäure umgewandelt wird. Der größere Teil wird in bisher unbekannter Weise verändert. Aber nicht nur bei Abwesenheit von Zucker verläuft die Acetessigsäureumwandlung in der beschriebenen Weise, sondern auch in Gegenwart von Zucker findet neben der β-Oxybuttersäurebildung ein unabhängig davon verlaufender Verbrauch von Acetessigsäure statt. Beide Vorgänge sind scharf voneinander zu trennen und gesondert zu untersuchen. R. Koch (Berlin).

Friedmann, E., Acetessigsäureumsatz und β-Oxybuttersäurebildung durch gärende Hefe. Untersuchung der durch Oxydation bestimmten β-Oxybuttersäure. (Biochem. Z. Bd. 244. 1932. S. 69—75.)

Die durch gärende Hefe aus Acetessigsäure gebildete, nach der Oxydationsmethode ermittelte Menge β-Oxybuttersäure ist größer als die durch Polarisation bestimmte, weil sämtliche nichtflüchtigen Substanzen, die bei der Behandlung mit Bichromat-Schwefelsäure flüchtige Ketone liefern, nach der Oxydationsmethode als β-Oxybuttersäure mitbestimmt werden. Benutzt man die nach der Polarisationsmethode erhaltenen Werte zur Berechnung der Umsatzbilanzen, so zeigt sich, daß durch gärende Hefe nicht die gesamte Acetessigsäure innerhalb 8 Stunden in β-Oxybuttersäure umgewandelt wird, sondern nur etwa 60%. Etwa 40% des Umsatzes bleiben zunächst unaufgeklärt. Die dabei entstehenden Stoffe werden durch die Oxydationsmethode erfaßt; ihre chemische Natur ist aber noch unbekannt. R. Koch (Berlin).

Braunstein, A. E. und Lewitow, M. M., Zur Kenntnis der biologischen Wirkung des Arsenats. III. Mitteilung: Versuche über biochemische Veresterung von Arsenat durch Hefe. (Biochem. Z. Bd. 252. 1932. S. 56—63.)

Die Frage, ob sich Arsenat in entsprechender Weise wie Phosphat mit Zucker in Gegenwart von Hefe verestern läßt, war noch offen. Verff. versuchten, die Zuckerarsenatbildung mittels Toluolunterhefe bzw. Trockenhefe zu erreichen und bestimmten das freie Arsenat im Reaktionsgemisch vor und nach gelinder Säurehydrolyse. Ob eine Veresterung des Arsenats erreicht wurde, war nicht eindeutig festzustellen. Jedenfalls dürften die zu erwartenden Hexose-Arsensäureester sehr labile Verbindungen sein. R. Koch (Berlin).

Zuckerkandl, F. und Messiner-Klebermass, L., Über die Einwirkung Imingruppen-bildender Substanzen auf den Zuckerabbau durch Hefe. — Beitrag zur Kenntnis

der Cozymasewirkung. I. Mitt. (Biochem. Z. Bd. 239. 1931. S. 172—181.)

Durch Jodessigsäure oder Natriumfluorid vergiftete Hefe, welche Glukose nicht mehr vergärt, läßt sich durch iminbildende Amine wie p-Phenylendiaminchlorhydrat, Anilinchlorhydrat oder Tyrosin reaktivieren. Die intermediär gebildeten Imine wirken nach Ansicht der Verff. wasserabspaltend auf Glukose, welche dadurch in zwei Dreikohlenstoffreste zerfällt. Phosphorylierung und Iminwirkung scheinen sich gegenseitig zu ergänzen. Möglicherweise beruht die Wirkung der Co-Zymase auf einer ähnlichen Iminwirkung, da auch das in der Co-Zymase enthaltene Adenin freie Imingruppen enthält. R. Koch (Berlin).

Lundsgaard, E., Weitere Untersuchungen über die Einwirkung der Halogen-Essigsäuren auf den Spaltungs- und Oxydationsstoffwechsel. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 61—88.)

Die Gärung frischer Preßhefe in Glukoselösung wird von Monojod- und Monobrom-Essigsäure stark gehemmt, während die Atmung unter gewissen Versuchsbedingungen nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Weniger wirksam ist die Dibrom-Essigsäure, während Tribrom-Essigsäure, α- und β-Jod- und Brompropionsäure, Monochlor-Essigsäure und Phenyl-Essigsäure fast oder ganz unwirksam sind. Die beiden gärungshemmenden Monohalogen-Essigsäuren entfalten ihre Wirkung in Tausendstel Normallösung in einem ph-Bereich von 4,5—5,0, ohne die Atmung zu beeinflussen. Die Gärung des nichtumgewandelten Kohlenhydrats wird durch Monojod-Essigsäure stärker gehemmt als diejenige der bei der normalen Alkoholgärung auftretenden Zwischenprodukte. Dementsprechend oxydiert vergiftete Hefe Brenztraubensäure und Alkohol leichter als nichtangegriffenes Kohlenhydrat. In einer angegorenen Glukoselösung oxydiert aber die Hefe nach Zusatz der Halogen-Essigsäure nicht nur die Zwischenprodukte und den Alkohol, sondern gleichzeitig auch die Glukose. Eine Zurückbildung des Alkohols zu Kohlenhydrat scheint in vergifteter Hefe nicht, in der normalen Hefe nur in geringem Umfange stattzufinden. R. Koch (Berlin).

Kluyver, A. I. und Roosmalen, F. L. W., Über die Vergärung von Trehalose. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 13—24.)

Trehalose wurde in verschiedenen Pilzen und Hefen gefunden. Eine Delfter Preßhefe erwies sich als gutes Ausgangsmaterial für die Gewinnung dieses Zuckers. Da bei der zellfreien Gärung von Glukose und Fruktose mittels aus Oberhefe hergestellter Trockenhefe, u. a. auch Trehalose-monophosphorsäureester gefunden wurde, bestand die Möglichkeit, daß die Trehalose durch synthetische Vorgänge aus den zugefügten Zuckern entstanden ist. Verff. neigen jedoch auf Grund der vorliegenden Versuche mit Trockenhefe mehr der Ansicht zu, daß der Trehaloseester mindestens teilweise aus bereits in der Hefe vorgebildeter Trehalose entsteht. Eine sichere Entscheidung ist jedoch noch nicht möglich. R. Koch (Berlin).

Chrząszcz, T., Tiukow, D. und Zakomorny, M., Über die biochemische Umwandlung des Äthylalkohols in Zitronensäure durch Schimmelpilze. (Biochem. Z. Bd. 250. 1932. S. 254—269.)

Die Umwandlung des Zuckers durch säurebildende Schimmelpilze verläuft in 2 Phasen. Zunächst wird der Zucker nach dem Neubergschen Schema über Methylglyoxal Brenztraubensäure, Azetaldehyd in Alkohol und Essigsäure verwandelt. Letztere werden dann zu Bernsteinsäure, Fumarsäure, l-Äpfelsäure und schließlich Zitronensäure verarbeitet. Zur Stützung dieser Anschauungen war nachzuweisen, daß nicht nur Zitronensäure aus Äthylalkohol entsteht, sondern auch die genannten Zwischenprodukte durch Schimmelpilze gebildet werden. Zur Durchführung der Versuche wurden 5 Penicilliumarten verwendet, die sich auch hinsichtlich der Anhäufung der einzelnen Säuren voneinander unterschieden. Die unter den Stoffwechselprodukten gefundene Glykolsäure wird von den kräftig säuernden Pilzen zur Bildung der Zitronensäure verwendet. Unter gewissen Umständen wird die Glykolsäure jedoch in Oxalsäure überführt. Die Theorie der Verff. über Zitronensäurebildung aus Zucker wird durch die Ergebnisse der Untersuchung gestützt. R. Koch (Berlin).

Hofmann, E., Über die Bildung von Oxalsäure aus Uronsäuren durch Aspergillus niger. (Biochem. Z. Bd. 243. 1931. S. 423—428.)

Impft man eine mineralsalzhaltige Glucuronsäurelösung in Gegenwart von Kreide mit Aspergillus niger, so tritt ein sehr langsamer Abbau der Glucuronsäure ein, bei dem keine Zwischenprodukte gefaßt werden können, da anscheinend nur CO_2 und H_2O als Endprodukte auftreten. Wird die Nährlösung aber mit KOH bis etwa zum $p_H = 5$ abgestumpft, so entsteht Oxalsäure, sowohl bei Verwendung von Glucuronsäure als auch von Galakturonsäure oder Tetragalakturonsäure. Andere Säuren, wie z. B. Zitronensäure, konnten dabei nicht gefunden werden.
R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K. und Waelsch, H. H., Über die Umwandlung aromatischer und hydroaromatischer Verbindungen durch Pilze. I. Mitt.: Der Abbau der Chinasäure und der Oxybenzoesäuren. (Biochem. Z. Bd. 249. 1932. S. 223—226.)

Bei dem Abbau der Chinasäure durch Aspergillus niger entstanden Zwischenprodukte, die sich mit Eisenchlorid grün färbten, also wohl Protokatechusäure bzw. Brenzkatechin. In Ansätzen mit Brenzkatechin, Hydrochinon, Gallussäure sowie o-, m- und p-Oxybenzoesäure ließ sich stets u. a. Oxalsäure als Endprodukt des Abbaues nachweisen.
R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K. und Scheuer, Z., Zum Chemismus der durch Aspergillus niger bewirkten Säurebildungsvorgänge. VI. Mitteilung: Über die Bildung der Glykol- und Glyoxylsäure aus essigsauren Salzen. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 11—15.)

Die Fähigkeit zur Bildung von Glykol-, Glyoxyl- und Oxalsäure aus Acetaten durch Aspergillus niger ist bei den einzelnen Pilzstämmen recht verschieden. Ob die Oxalsäurebildung aus Essigsäure vornehmlich über Glykolsäure oder über Bernsteinsäure verläuft, ist noch nicht sicher zu entscheiden. Zitronensäure kann ebenfalls aus Glykolsäure oder Bernsteinsäure gebildet werden. R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K. und Thelen, H., Zum Chemismus der durch Aspergillus niger bewirkten Säurebildungsvorgänge. IX. Mitteilung: Über die Abfangung von Acetaldehyd in den Pilzkulturen. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 30—36.)

Unter bestimmten Bedingungen gelang die Abfangung von Acetaldehyd beim biochemischen Zuckerabbau durch Aspergillus niger mittels Natriumsulfit. Es konnten bis 20% der Theorie an Acetaldehyd abgefangen werden. In diesen Fällen entstand keine Oxal- oder Zitronensäure in den Kulturen. Die Säurebildung durch Pilze scheint also zunächst nach dem Neubergschen Schema der alkoholischen Gärung vor sich zu gehen. Erst die dabei entstehenden Zwischenprodukte Alkohol und Essigsäure werden zu den anderen für diese Gärungsvorgänge charakteristischen Säuren weiterverarbeitet. R. Koch (Berlin).

Zuckerkandl, F. und Messiner-Klebermass, L., Über die Rolle des Eisens bei der alkoholischen Gärung. (Biochem. Z. Bd. 261. 1933. S. 55—63.)

Die von O. Warburg vertretene Ansicht, daß Eisen ein notwendiger Bestandteil des Zymasekomplexes sei, konnte durch neue Versuche gestützt werden. Durch Bindung des in Preßhefe oder Trockenhefe vorhandenen wirksamen Eisens als Komplexsalz durch ein für die Zelle ungiftiges Reagens wurde die Gärung gehemmt. Ferroverbindungen liefern mit α, α'-Phenanthrolin sehr beständige Komplexe. Bei Einwirkung dieses Stoffes auf Hefe trat Gärungshemmung durch Inaktivierung des Eisens ein. α, β'-Phenanthrolin reagiert nicht mit Ferroverbindungen und wirkt infolgedessen auch nicht gärungshemmend. Im Zymasekomplex scheint das Eisen in der Ferroform vorzuliegen. Hämineisen liefert kein α, α'-Phenathrolinkomplexsalz. Durch Blausäure wird die Gärung in geringerem Maße gehemmt als die Atmung. Die Organismen scheinen zwei Eisenfermentsysteme zu enthalten, ein cyanidempfindliches Atmungsferment und ein gegen Cyanid weniger empfindliches Gärungsferment. R. Koch (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Whitehead, H. R., and Cox, G. A., The influence of bacilli of the colon group on the production of acid by lactic streptococci in milk. (Journ. of Dairy Research. Vol. 4. 1932. p. 74.)

Escherichia coli und Aerobacter acrogenes, die in Milch 3—16 Std. gezüchtet worden sind, hemmen teilweise die folgende Säureproduktion von Milchsäurestreptokokken. Diese Wirkung ist nicht vom ph oder der Milchsäure abhängig und dauert nach dem Pasteurisieren der Milch bei 75° C 1 Std. an. Die für Hervorbringung einer deutlichen Hemmung erforderliche Anzahl von Colonbazillen ist weit größer als in der Praxis gefunden wurde, so daß nicht anzunehmen ist, daß diese Erscheinung bei der Käsefabrikation auftritt. Davis (Heidelberg).

Malcolm, J. F., The plate method of estimating the bacterial count of milk — the limitations of procedure in common use with suggested improvements. (Journ. of Dairy Research. Vol. 4. 1932. p. 91.)

Es wird eine vereinfachte Methode beschrieben zur Herstellung der Lösungen in der gewöhnlichen Bakterienbestimmung in Milch. 1 ccm Milch wird zu 99 ccm Kochsalzlösung gegeben und 1 ccm und 0,1 ccm dieser Suspension wird für Lösungen von 1 : 100 und 1 : 1000 verwandt. Für die Lösung von 1 : 100 werden 5 Schalen, für die von 1 : 1000 2 Schalen gebraucht. Diese Methode gibt zuverlässige Resultate für Milch, die bis zu 50 000 Bakterien pro Kubikzentimeter enthält. Bei einer höheren Zahl müssen 5 Schalen für eine Lösung von 1 : 1000 gebraucht werden. Es werden einige Daten gegeben, die die Beziehung zwischen einer Durchschnittszahl von Bakterien von 2, 5, 10 und 20 gleichen Schalen zeigen.

Davis (Heidelberg).

Hiscox, E. R., Hoy, W. A., Lomax, K. L., and Mattick, A. T. R., The bacteriological examination of milk. 1. Modifications of the plate count method. 2. The use of the methylene blue reductase test at 15.5° C. as a method of determining the keeping quality of milk. (Journ. of Dairy Research. Vol. 4. 1932. p. 105.)

Mit der üblichen Methode zur Bestimmung der Bakterienmenge in Milch haben Verff. häufig Unterschiede gefunden zwischen der Bakterienzahl in Schalen mit Lösungen von 1 : 100 und 1 : 1000. Dieser Unterschied ist häufig verbunden mit der Anwesenheit großer Mengen kleinster Kolonien in 1 : 100 verdünnter Lösung, während diese in 1 : 1000 verdünnter Lösung fehlen können. Der Unterschied wird ausgeglichen durch Verwendung von „Standardagar“ (Pepton 0,5%, Fleischextrakt 0,3%, Agar 1,5%) und Zusatz von Milch, nicht aber von Dextrose, Galaktose, Laktose oder Hefeextrakt. Eine weitere Inkubation der Schalen bei 37 und 22° hatte eine in manchen Fällen beträchtliche Vermehrung der Zahl zur Folge (normale Inkubationszeit 48 Std. bei 37°). Eine nahe Beziehung scheint zwischen der Haltbarkeit bei 15° (festgestellt nach dem Geschmack) und der Methylenblaureduktionsprobe bei 15° zu bestehen. Es erscheint daher vorteilhaft, die frühere Methode durch die letztere zu ersetzen. Davis (Heidelberg).

Edwards, S. J., A differential plating medium for Streptococcus mastitis. (Proceed. Royal Soc. Med. Vol. 26. 1933. p. 8.)

Der nachstehend beschriebene Nährboden ermöglicht Wachstum und Nachweis hämolytischer und nichthämolytischer Streptokokken, die in Milch vorkommen: Bouillon-Agar ph 7,4, 5% Rinderblut, Kristallviolett 1 in 200 000 1%, Aeskulin 0,05%, Eisenzitrat 0,05%. Kristallviolett hemmt einige gewöhnlich verunreinigende Organismen, aber nicht E. coli, S. lactis und einige Staphylokokken. Diese verunreinigenden, der Farbe widerstehenden Organismen hydrolysieren Aeskulin und das so hervorgerufene Aeskuletin gibt eine schwarze Färbung mit Eisensalz. Dieser biochemische Unterschied ermöglicht die Unterscheidung der Mastitisstreptokokken, da sie nicht Aeskulin hydrolysieren. Davis (Heidelberg).

Cunningham, A., A bacterial milk taint. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1933. p. 197.)

Als Ursache für die Bildung von Amylalkoholgeruch in Milch von guter hygienischer Beschaffenheit wurden Mikrokokken, die M. caseolyticus (Evans) ähnlich sind, gefunden. Obwohl unter anaeroben Bedingungen ein geringes Wachstum erreicht werden konnte, trat der Geruch nur in Gegen-

wart von Sauerstoff auf. Ammoniumsalze, Nitrate und Asparagin waren als Stickstoffquellen nicht imstande, das Wachstum zu unterhalten; hingegen ergaben Kasein und Pepton gutes Wachstum und das Auftreten des Geruches. In Kulturen, die Leuzin als einzige organische Komponente enthielten, trat sofort der Amylalkoholgeruch auf, er verschwand, wenn die Kühe im Sommer auf die Weide gebracht wurden, und trat wieder auf, wenn die Tiere im Winter im Stall gehalten wurden. Als Infektionsquelle erwies sich der Boden der Ställe. Spülen und Desinfizieren der Böden brachte den Geruch allmählich zum Verschwinden. Davis (Heidelberg).

Kon, Phyllis M., Coliform organisms in milk and bovine faeces. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1933. p. 206.)

Die Kulturen von Gram-negativen, Milchzucker vergärenden Bakterien wurden mit den üblichen Methoden untersucht. Eine große Anzahl von ihnen erwies sich als Intermediärform zwischen B. coli und B. aerogenes oder als Mischkultur. Diese konnten durch 4 Nährböden, die die Trennung des B. coli von B. aerogenes ermöglichen sollten, nicht unterschieden werden. Der folgende Nährboden gestattete Wachstum von B. aerogenes, aber nicht von B. coli nach 48 Std. bei 37° C: NaCl 0,25%, zitronensaures Natrium 0,1%, $MgSO_4$ 0,01%, $(NH_4)H_2PO_4$ 0,05%, K_2HPO_4 0,05%, Agar 1,5%, Brillantgrün (1 in 2500-Lösung) 1%. Bei Benutzung dieses Nährbodens sank die Zahl der Intermediatformen in 55 Kulturen von 30 auf 6. Wenn Milch statt Laktose-Gallensalznährboden als Quelle für coliforme Bakterien genommen wurde, entstand B. aerogenes in größerer Menge. Coliforme Bakterien, von Kuhmist isoliert, erwiesen sich beinahe ausschließlich als B. coli. Davis (Heidelberg).

Wittholz, W., Die Einwirkung von Natriumrhodanid auf Milch. II. Die Abtötung von Milchbakterien durch Natriumrhodanid. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 315—320, 3 Tab.)

Streptococcus lactis, Streptococcus thermophilus und Bacterium bulgaricum wurden auf einem von Barthel nach einem Vorschlag von Orla-Jensen angegebenen Agar-Nährboden 24 Std. vorgezüchtet und mit sterilem Wasser abgeschlämmt. Nach Filtration wurde damit eine von Soerensen angegebene Phosphatpufferlösung (ph 6,4; 5,9 und 4,97) beimpft, die das NaSCN in 0,2—1,0 normaler Lösung (= 1,62—8,10%) enthielt. Die Einwirkungsdauer bei 19 bis 22° C betrug 5 Min. bis 2 Std. In nachstehender Tabelle sind die Abtötungswerte aufgeführt:

	ph	Konzentr. %	Zeit	ph	Konzentr. %	Zeit	ph	Konzentr. %	Zeit
Streptococc. lactis	6,4	8,10	30 Min.	5,9	6,88	30 Min.	4,97	4,86	30 Min.
		6,88	1 Std.		5,67	1 Std.		4,45	1 Std.
Streptococc. thermophilus	6,4	5,26	30 Min.	5,9	4,45	30 Min.	4,97	4,05	30 Min.
		4,86	1 Std.		3,64	1 Std.		3,24	1 Std.
Bacterium bulgaricum	6,4	6,48	30 Min.		4,45	30 Min.		2,83	30 Min.
		5,67	1 Std.		4,05	1 Std.		1,62	1 Std.

Die Wirksamkeit des NaSCN wurde demnach in saurer Lösung gefördert. Die Einordnung nach fallender Widerstandsfähigkeit ist: Str. lactis, Str. thermophilus, Bact. bulgaricum.

H. Mossel (Weihenstephan).

Jahr, M., Die Pilzflora in der Handelsmilch. (Molkereiztg. 1933. S. 1428—1431.)

Den weitaus größeren Raum nehmen im Gegensatz zur Angabe des Titels die Ausführungen über Bakteriengehalt von Altonaer Handelsmilch ein als solche über den Pilzgehalt (Milchschimmel). Die Ergebnisse sind folgende: Die Mehrzahl der in den Jahren 1930—1932 geprüften offenen Milchproben (rohe und pasteurisierte Milch in Kannen) wies einen Gehalt von weniger als 100 000 Keimen pro Kubikzentimeter auf. Hinsichtlich der Gesamtheit der Proteolyten (einschließlich Sporenbildner) hatte $1/4$ der untersuchten Rohmilchproben Zahlen bis zu 10 000, $^1/_5$ solche von 200 000—500 000 aufzuweisen, bei der erhitzten Milch lag $^1/_5$ der Proben niedriger, nämlich von 50 000—100 000. Nur wenig Proben (3—4%) waren gänzlich frei von Proteolyten. Verf. fand in allen Proben Coli-aerogenes-Bakterien ohne Unterschied, ob Roh- oder erhitzte Milch vorlag. Frei von Schimmelpilzen (Oospora lactis) waren 13% der Rohmilch- und 3% der Molkereimilch-Proben. Der Gehalt an Milchschimmel war bei der Molkereimilch stets etwas größer als bei der Rohmilch. Bei der Kontrolle der Flaschenmilch während 1931 und 1932 ergab sich, daß die für rohe Vorzugsmilch höchst zulässige Keimzahl von 150 000 Coli-Keimen pro Kubikzentimeter seit Inkrafttreten des Milchgesetzes nur mehr von etwa 5% der Proben überschritten wurde, während dies im Vorjahre bei rund 28% der Fall war. Ähnlich verhielt es sich mit der pasteurisierten Flaschenmilch. Der Coligehalt der Vorzugsmilch aus 5 Betrieben wechselte stark, noch viel weniger war die pasteurisierte Flaschenmilch frei von dieser Organismengruppe! Die Sporenbildner dagegen traten bei der Mehrzahl der Kindermilchproben praktisch völlig zurück, in der pasteurisierten Milch hingegen waren sie zahlreicher. Die eiweißabbauenden Bakterien insgesamt traten des weiteren in der Flaschenmilch nicht so häufig auf wie in der offenen Milch. Frei von Proteolyten waren in der rohen Flaschenmilch etwa $^2/_5$, in der erhitzten $^1/_3$ aller Proben, die absolute Menge betrug im ersten Falle bis zu 200, im letzten bis zu 1000 Keimen pro Kubikzentimeter. Mit dem Milchschimmel waren die erhitzten Proben stärker behaftet als die Vorzugsmilchproben.

Was das Verhältnis der Säurebildner zu den Nichtsäurebildnern betrifft, so ergaben sich folgende Tatsachen: Offene Milch: Unter der Annahme, daß dieses Verhältnis in einer „Idealmilch" 80 : 20 beträgt, würden von beiderlei Milchsorten rund 75% aller Proben diesem Verhältnis gerecht werden. Flaschenmilch: Unter Zugrundelegung des Idealfalls würden von der Vorzugsmilch 94%, von der erhitzten Milch nur 65% der Probe der hypothetischen Idealmilch gleichkommen.

Zum Schluß wird auch über Versuche mit verschiedenen Bebrütungstemperaturen berichtet. In der Mehrzahl der Proben (rohe und erhitzte Milch, insgesamt 236 Einzelmilchen) konnte Verf. nachweisen, daß die Keime bei 30° C ungleich stärker wuchsen als bei 37° C, wodurch sich in vielen Fällen oft ein Mehrfaches der bei 30° C gegenüber den bei 37° C bebrüteten ergab. Dies galt ganz besonders bei Rohmilch. Die erhitzten Milchen ließen bei 37° C zu einem geringen Prozentsatz

höhere Koloniezahlen in Erscheinung treten wie bei 30° C. Die Ursache dieser letztgenannten Erscheinung ist nach Verf. auf das bessere Auswachsen der Sporenbildner und des Bacterium coli zurückzuführen. (Dies beweist erneut die Notwendigkeit einer Revision der im Runderlaß des Preuß. Landwirtschaftsministeriums erlassenen Verfügung, wonach bei der bakt. Kontrolle der Vorzugsmilch, die eine Rohmilch ist, die Platten nur 1 Tag bei 37° C bebrütet werden müssen. D. Ref.)

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Bessau, G., Die Saprophyten der Milch und ihre Bedeutung. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 59. 1933. S. 1419—1423 und 1461—1464.)

Unter den Saprophyten der Milch spielen so gut wie ausschließlich nur die Colibakterien eine pathogenetische Rolle, diese allerdings in erheblichem Maße. Da die Milch, selbst wenn sie schon enorme Mengen an Colikeimen enthält, noch einen durchaus unverdorbenen Eindruck machen kann, aber in diesem Stadium manchmal besonders verheerend wirkt, kann das schädigende Moment nicht in der Zersetzung der Milch liegen, sondern muß durch die lebenden Colikeime bedingt sein. Nicht jeder Colistamm vermag die „Diarrhoea neonatorum“ hervorzurufen, sondern nur einzelne bestimmte, die sich serologisch einwandfrei differenzieren lassen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Moir, G. M., The curd test for milk grading. (New Zealand Journ. Agricult., September 1932.) [Sonderdruck.]

In einem einleitenden geschichtlichen Überblick über die speziellen Vorteile, die der Beobachtung des Labgerinsels vor anderen Methoden zur Beurteilung der Käsereitauglichkeit der Milch zugesprochen werden, zitiert Verf. die Labgärprobe, die Bumann-Methode und den „Wisconsin curd test“. Die beiden letztgenannten Verfahren seien aber seiner Ansicht nach etwas umständlich, dieser Nachteil finde sich nicht bei der „Neuseeland-Gerinnselprobe“, die von Singleton, Morgan und Syron ausgearbeitet worden ist. Der hierzu notwendige Apparat ist patentiert (New Zealand-Patent Nr. 68 636). Im Prinzip arbeitet er folgendermaßen: Die gelabten Milchproben können in größerer Anzahl leicht bei gleicher Temperatur gehalten, nach vollzogener Gerinnung auch gleich geschnitten und verzogen und nach Festigung des Bruches von der Molke befreit werden. Der Bruch kann innerhalb des Apparates aus den Gläsern in Becher ausgekippt werden, worin er solange verbleibt, bis er beurteilungsreif ist. Die angewendete Temperatur ist 37—37,5° C. Die besonderen Vorteile gegenüber der in Europa üblichen Labgärprobe bestehen nach Verf. in der gleichmäßigen äußeren Form der zu beurteilenden Käschen, in der Zeitersparnis und in der größeren Eignung der Käschen, sie in ihren Fehlern den Milcherzeugern drastisch vor Augen zu führen. Die Methylenblauprobe ist nach Verf. eine sehr brauchbare Ergänzung der „Gerinnselprobe“. Während sie aber durch Zusatz bestimmter chemischer Mittel von seiten der Lieferanten verfälscht werden kann, kommt diese Möglichkeit bei der Gerinnselprobe nicht in Betracht.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Olson, H. C., and Hammer, B. W., Bacteriology of Butter. V. Studies on the Microorganisms in Churns. (Res. Bull. Nr. 159. 1933.)

Es wurden von Verff. zweierlei Methoden zur mikrobiologischen Analyse von Butterfässern angewendet: 1. Die Agaraufgußmethode auf die Innenfläche des Butterfasses. 2. Die Auswaschmethode. Im ersten Fall wurden die Werte pro Quadratzentimeter angegeben, im letzten Fall pro 1 ccm von rund 40 l Schwenkwasser. Als Nährboden für die Bakterien diente Fleischwasseragar, für die Schimmel und Hefen angesäuerter Malzagar. Die Bebrütung der Platten erfolgte bei Zimmertemperatur während 4 Tagen. Die Ergebnisse der in mehreren Teilen erfolgten Untersuchungen sind folgende:

1. Teil: Ausmaß der Butterfaßinfektion in praktischen Betrieben (27 Butterfässer). Die Bakterienzahl schwankte von 1,3—200 pro qcm; 10 Fässer hatten weniger als 10. Die in ihnen gefundenen Bakterien gehörten zumeist dem Genus Bazillus an, manchmal fanden sich auch Mikrokokken. Dieses Bild änderte sich erst bei stärkerer Infektion, etwa von mehr als 200 Keimen pro qcm an, dann herrschten die Mikrokokken vor, die Fässer hatten einen unangenehmen Geruch, zeigten mehr oder weniger Fett und Gerinnsel am Holz und waren allgemein schlecht gepflegt. Die Pilz- und Hefekeimzahlen waren durchwegs niedriger als die Bakterienzahlen. — 2. Teil: Regelmäßige Heilwasserbehandlung (83—93° C heißes Wasser 15—20 Min. umlaufen gelassen). Es kamen 2 Butterfässer zur Untersuchung. Sie hatten 600 Pfund Fassungsvermögen und waren in gutem Zustand, obwohl 4—5 Jahre in Betrieb. Faß A zeigte im Innern einige abgeschieferte Stellen. Die Befunde während der 6—9 Monate dauernden Behandlung mit Heißwasser sind folgende (Durchschnittskeimzahlen pro qcm Oberfläche):

Faß	Bakterien	Schimmel	Hefen
A	17,4	0,28	0,04
B	22,5 (15,2)	0,24	0,03

Die Bakterienflora setzte sich zumeist aus Vertretern des Genus Bazillus zusammen, was unter der Einwirkung der Heißwasserbehandlung verständlich ist. Jahreszeitliche Unterschiede konnten nicht beobachtet werden. Beide Fässer waren dauernd frei von Gerinnsel, Fett und widrigem Geruch. — 3. Teil: Gebrauch von Chlorverbindungen zusammen mit Heißwasser. Die benutzten Chlorverbindungen waren zunächst Natriumhypochlorit, Chlorkalk und Kalziumhypochlorit. In den Versuchen mit Natriumhypochlorit schwankte die Bakterienzahl vor Behandlung pro qcm von 2,8—44 mit einem Durchschnitt von 20,5, nach Behandlung von 0,1—2,4 mit einem Durchschnitt von 0,8. Bei den Hefen waren die entsprechenden Zahlen 0,0—1,2, im Mittel 0,4, während nach der Desinfektion praktisch keine Hefen mehr gefunden werden konnten. Die Pilze waren vorher mit einem Durchschnitt von 0,12 pro qcm vertreten, hernach mit 0,03. Bei den Chlorkalkversuchen war die Bakterienzahl vor Behandlung 16,2 pro qcm Holzoberfläche, schwankend von 1,8—110, nach Behandlung durchschnittlich nur mehr 0,2, schwankend von 0,1—0,8. Die Hefezahlen waren schon vorher nur sehr minimal (0,02 im Mittel) und verschwanden nach der Chlorkalkbehandlung vollkommen, die Pilze gingen im Durchschnitt von 0,15 pro qcm auf 0,06 zurück. Bei Anwendung der Kalziumhypochloritlösungen betrug der Bakteriengehalt pro qcm Holzoberfläche im Mittel vor der Behandlung 35,2 (Minimum und Maximum 2,1 bzw. 151), hernach waren die entsprechenden Werte 0,02 (0 bzw. 0,05) pro qcm. Die Hefezahlen betrugen vorher 0,02 und waren nach Behandlung praktisch verschwunden, die Pilzzahlen betrugen vor der Desinfektion durchschnittlich 0,33 pro qcm, hernach 0,14. Eine Beziehung zwischen der Temperatur und Konzentration der Lösung sowie der Länge ihrer Einwirkung einerseits und der Abtötung der Mikroorganismen anderseits konnte nicht gefunden werden. Immerhin war eine beträchtliche Reduktion der Keimzahlen, insbesondere der Bakterien, als Folge der Chlorbehandlung in Verbindung mit Heißwasser festzustellen. Schließlich wurde auch noch die Wirkung von Natriumchlorid ausprobiert. Es wurde eine ungefähr 7proz. Salzlösung in dem Butterfertiger mittels Dampf zum Kochen erhitzt und dann für 5 Min. in raschem Lauf umgehen gelassen. Nach dem Auslaufen und Trocknen war das Holz mit feinen Salzkristallen bedeckt. Das Salz übte praktisch keine Wirksamkeit aus. Die beachtete Reduktion war lediglich der Temperaturwirkung zu verdanken. — 4. Teil: Behandlung stark infizierter Butterfässer. Im allgemeinen konnten die Ergebnisse von Teil 2 und 3 bestätigt werden.

Aber es gibt in einem Butterfaß anscheinend Stellen, die der Wirkung einer Desinfektionslösung nur schlecht zugänglich sind. Hier muß ganz gründliche mechanische Reinigung einsetzen. Im übrigen erwies sich die Hitzewirkung besonders intensiv zusammen mit Chloraminlösungen. — 5. Teil: Infektion des Butterfasses aus der Luft. Es wurde von Verff. immer schon beobachtet, daß die Knetwalzen und die der Öffnung am meisten benachbarten Partien des Butterfertigers mehr infiziert waren als die anderen Teile. Es konnte nun festgestellt werden, daß dies ganz besonders dann der Fall ist, wenn die betreffenden Partien nicht trocken, sondern feucht sind. — 6. Teil: Allgemeine Beobachtungen über Butterfaßinfektion. Äußerst wichtig ist, daß die das Butterfaß zusammensetzenden Bretter fest zusammengefügt sind. Ist nur ein einziges derselben lose, dann kann der dazwischen befindliche Raum zu den schlimmsten Infektionen Veranlassung geben. Ferner ist unbedingt mit der Wahrscheinlichkeit zu rechnen, daß durch die große materielle Beanspruchung während des Butterns und besonders während des Knetens Infektionsherde in Tätigkeit gesetzt werden, die beim gewöhnlichen Auswaschen mit Wasser oder Desinfektionslösungen nicht erfaßt werden. — 7. Teil: Einfluß der Butterfaßinfektion auf die Haltbarkeit der Butter. Es wurden 61 Bakterienarten aus Butterfertigern auf ihre Fähigkeit untersucht, in ungesalzener Butter bei einer Lagerungstemperatur von 15° C deutliche Veränderungen hervorzurufen. Dies war immer der Fall, nur bei wenigen war der Einfluß geringfügig. Im allgemeinen waren Qualitätsverminderungen durch die Vertreter der nicht sporenbildenden Stäbchen und Mikrokokken größer als diejenigen durch die Bazillustypen. Mischkulturen dieser Keimgruppen hatten jedoch eine besonders ungünstige und rasche Wirkung. Es zeigten sich keine markanten Unterschiede in der Haltbarkeit von gesalzener Butter von sauberen oder infizierten Butterfässern bei einer Aufbewahrungstemperatur von 0—6,5° C. Die Haltbarkeit von ungesalzener Butter jedoch variierte wesentlich, je nachdem das Butterfaß infiziert oder sauber war. Der typische Fehler war im ersten Falle Ranzigkeit, während bei ungesalzenen Butterproben aus gut gereinigten Butterfässern gerne der Fehler „käsig" auftrat.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Schaeffer, Mich., Untersuchungen an Bog-Butter. (Milchwirtschaftl. Forsch. Bd. 15. 1933. S. 408—412, 5 Tab.)

Bog-Butter ist eine in irischen und schottigen Torfmooren (bog = Torfmoor) in hölzernen Gefäßen sich findende Masse von grauweißer Farbe und bimssteinähnlichem Aussehen, die sich fettig anfühlt. Diese Masse war ursprünglich Kuhbutter, deren Erzeugungsdatum in das 6.—16. Jahrhundert fällt. Vom bakteriologischen Standpunkt interessiert an den Untersuchungen die Feststellung, daß das Material, trotz Untersuchung auch auf Aerobier und Anaerobier, steril war. H. Mossel (Weihenstephan).

Nelson, J. A., and B. W. Hammer, Studies on the butter culture organisms in butter. (Journ. of Dairy Science. Vol. 16. 1933. p. 375—385.)

Verff. beobachteten in manchen Handelsbutterproben keine, in anderen wiederum zahlreiche langkettige Streptokokken. Es erhob sich die Frage, ob diese Ketten lediglich auf die Verwendung einer bestimmten Säureweckerkultur zurückgeführt werden können oder auf die Tatsache, daß sich die Säureweckerorganismen (Str. lactis bzw. cremoris und die Zitratvergärer) nachträglich noch in Butter vermehren und so zur Entstehung der Ketten Veranlassung geben. Es ergab sich folgendes: Im allgemeinen war in gesalzener Butter auch bei günstiger Wachstumstemperatur kein nennenswertes Wachstum der Säureweckerstreptokokken zu beobachten. Die anderen, nicht für Rahmsäuerung in Betracht kommenden Bakterien, zeigten ein wechselndes Verhalten. In ungesalzener Butter hingegen wiesen alle Säureweckerorganismen üppiges Wachstum auf. Die auffallendste Erscheinung war hierbei das Auftreten langkettiger Streptokokken in der

Butter. Die anderen Mikroorganismen zeigten ebenfalls ein sehr reichliches Wachstum. Nach 150—171tägiger Aufbewahrung bei —20° C ging die anfängliche Keimzahl von gesalzener Butter um durchschnittlich 64% zurück, von ungesalzener um durchschnittlich 74%. Bei beiden Butterarten wurden die stärksten Reduktionen bei den Proben erhalten, die bei Beginn der Lagerung die höchste anfängliche Keimzahl aufwiesen. Bei der ungesalzenen Butter konnte noch im besonderen festgestellt werden, daß die Proben mit dem geringsten Anfangskeimgehalt durchweg auch die geringste Keimverminderung erfuhren, was bei der gesalzenen Butter nicht der Fall war. Wo bei gesalzener Butter nur geringfügige allgemeine Keimabnahmen beobachtet wurden, fanden sich viele Mikrokokken.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Committee on Bacteriological Methods of the Am. Dairy Science Association: Methods of Analyzing Dairy Products. (Journ. Dairy Sci. Vol. 16. 1933. p. 277—288.)

1. Teil: Bakteriologische Prüfung von Rahmeis. Schilderung der Probenahme der flüssigen und festen Ingredienzien, Verarbeitung der Proben nach der volumetrischen oder gravimetrischen Methode, Herstellung des Agarnährbodens (Standardagar, daneben wird auch Milchpulveragar empfohlen) und Bebrütung (2 Tage bei 37° C), direkte mikroskopische Methode, Interpretation der gefundenen Gesamtkeimzahlen, Anaerobienprobe (nach Weinzirl) und Colititerbestimmung. — 2. Teil: Die mikrobiologische Analyse von Butter. Nach vorsichtigem Schmelzen der Butter wird diese in die angewärmten Verdünnungsflaschen geimpft und auf Platten verarbeitet. Als Nährmedien für die Bestimmung der Pilz- und Hefekeimzahl kommen in Betracht: Glukose-, Malz- oder Würzeagar, wobei vor dem Ausgießen der Platten der Agar mittels steriler Weinsäure auf ein ph von 3,5 gebracht werden muß. Bebrütung bei 21—25° C während 4 Tagen. Für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl wird Laktose-Rindfleischpeptonagar (hergestellt nach genau angegebenem Rezept) empfohlen. Bebrütung am besten 4—5 Tage bei 21—25° C mit anschließenden 2 Tagen bei 37° C. Für die Bestimmung der Eiweißzersetzer werden folgende 2 Methoden vorgeschlagen: 1. Überimpfen der auf dem Laktose-Agar ausgewachsenen Kolonien in sterile Magermilch mit Lackmus oder Bromkresolpurpur als Indikator, Bebrütung der Röhren während 5 Tagen bei 21° C. 2. Beimpfen eines kaseinhaltigen festen Nährbodens und Feststellung der kaseinlösenden Kolonien nach 4—5tägiger Bebrütung bei 21—25° C. Als geeignete Nährböden werden Rindfleisch-Milch-Agar oder Kasein-Agar nach Frazier und Rupp empfohlen. Für die Bestimmung der fettspaltenden Mikroorganismen wird folgendes Rezept nach Hussong angegeben: Zu gewöhnlichem Standardagar wird 2—4% Butterfett (oder auch Olivenöl) gefügt und das ganze sterilisiert. Vor dem Gießen der Platten muß kräftig geschüttelt werden, um das Fett genügend zu emulgieren. Die Zufügung des Indikators (0,1% sterile wässerige Lösung von Nilblau) kann entweder kurz vor dem Ausgießen in die Petrischale geschehen (in einer Menge von 0,5—1,0 ccm pro Schale) oder auch schon vor dem Sterilisieren des Agars vorgenommen werden. Das entsprechende Impfmaterial kann direkt mit dem warmen Fettagar gemischt oder aber erst auf dem bereits erstarrten Agar oberflächlich ausgestrichen werden. Fettspaltende Kolonien färben die Fetttröpfchen in ihrer Umgebung blau. — Zur mikroskopischen Keimzählung dient die Methode von Nelson und Hammer, die die in einem Spezialscheidetrichter auszentrifugierte Butterlake zum Ausgangspunkt nimmt.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Whitehead, H. R., and Cox, G. A., A method for the determination of vitality in starters. (New Zealand Journ. Sci. Techn. Vol. 13. 1932. p. 304.)

Verff. haben eine praktische Methode entwickelt, die auf Bestimmungen der Aziditätstitration in der Molke von „Mikrokäsen" gegründet ist.

Davis (Heidelberg).

McDowall, F. H., and Whelan, L. A., The distribution of salt in Cheddar cheese. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1932. p. 147.)

Es werden wesentliche Schwankungen im Kochsalz- und Wassergehalt in den verschiedenen Teilen des Käses nachgewiesen. Vermutlich sind die bekannten lokalen Variationen im Bakteriengehalt des Käses auf diese Ursache zurückzuführen. Davis (Heidelberg).

Frazier, W. C., Burkey, L. A., Matheson, K. J., and Watson, P. D., Thermophilic streptococci as starters for Swiss cheese. (Journ. Dairy Science. Vol. 16. 1933. p. 387—399.)

Nach Angaben der Schweizer Literatur finden sich in der Fettsirtenkäsereikultur regelmäßig thermophile Streptokokken ein, durch deren Anwesenheit verhindert wird, daß sich im Schweizer Käse mitunter ein bitterer Geschmack ausbildet. Dieser Fehler stellt sich gern infolge Verwendung von alleiniger Bact. casei ε-Käsereikultur ein. Diese thermophilen Streptokokken bestehen aus dem Strept. thermophilus. Es wurden von den Verff. zu ihren Käsereiversuchen drei verschiedene Stämme dieses Organismus ausgewählt, und zwar wurde jedesmal ein Käse mit Bact. casei ε-Kultur allein und ein Käse mit Bact. casei ε-Kultur + Strept. thermophilus-Kultur hergestellt. Die Ergebnisse sind folgende: 1. Die Zufügung des Strept. thermophilus fördert die Qualität des Käses, und zwar hauptsächlich in Betreff Augenbildung, Teig und Geschmack. 2. Manchmal traten jedoch auch Gläsler auf. 3. Käse mit Rohkultur oder Fettsirtenkäsereikultur zeigten keine Überlegenheit über solche, bei denen nur eine Reinkultur von Strept. thermophilus verwendet worden war. 4. Die Verwendung einer solchen Reinkultur vermeidet somit die Ungewißheit, der man mit Kulturen aus „roher" Molke ausgesetzt ist. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Skorodumova, A. M., Der Einfluß der Hauptfaktoren bei der Käsebereitung (Lab, Bearbeitung im Kessel und Salzen) auf den Verlauf der mikrobiologischen Käsereifungsprozesse. Arbeiten des Milchwirtschaftlichen Instituts zu Wologda. (Bulletin Nr. 84. p. 87—114.) [Russisch m. dtsch. Zusammenfassung.]

Vergleichende Untersuchungen wurden durchgeführt:

1. an normal gesalzenen Hartkäsen, 2. an solchen ohne Salz, 3. an Milch ohne Labzusatz, 4. an Milch mit Labzusatz, ohne daß aber eine Bearbeitung der gelabten Milch vorgenommen wurde. Die Ergebnisse lassen folgendes schließen: 1. Der Charakter der mikrobiologischen Umsetzungen ist unter gleichen Verhältnissen wenig Schwankungen (mehr quantitativer als qualitativer Natur) unterworfen. Allgemein herrschen die Milchsäure-Bakterien vor, Fäulniserreger fehlen fast vollkommen; die Entwicklung der Milchsäure-Bakterien geht überall in 2 Etappen vor sich: zuerst dominiert der Strept. lactis, dann das Bact. casei. 2. Der Einfluß des Salzens vollzieht sich in Richtung der Keimverminderung, Regulierung und Ausgleichung. Dies äußert sich besonders deutlich im 3. Monat der Reifezeit insofern, als die ungesalzenen Käse schwammiges Aussehen und unangenehmen Geschmack besitzen. Auch die Milch, aus der die ungesalzenen Käse hergestellt waren, ließ unter fast gleichen Verhältnissen eine analoge Entwicklung der Bakterienflora erkennen, nur daß die

Umsetzungen in der Milch nicht so intensiv vor sich gingen wie im Käse. Im übrigen war in der Milch dieselbe Gesetzmäßigkeit in dem Auftreten der Milchsäure-Bakterien zu beachten wie im Käse, auch ungefähr in denselben Zeiträumen. Die Hinzufügung des Labfermentes in die Milch stimuliert merklich den milchsauren Prozeß nach der mikrobiologischen wie auch nach der chemischen Seite (schnellere Zerlegung des Zuckers, größeres Maximum des Säuregrades); jedoch wird die erwähnte Wirkung des Labfermentes erst zum Schluß des ersten Tages nach der Einlabung merklich, ohne jedoch im Verlauf der Reifung irgendeinen merklichen Einfluß des Labfermentes auf den qualitativen Bestand der Mikroflora erkennen zu lassen. 3. Im Vergleich zur unbearbeitet gelassenen Milch steigert sich bei der Bearbeitung des Bruches die Keimzahl um ein Vielfaches. Wenn auch im Laufe der auf die Bearbeitung folgenden Stunden dieser Unterschied wieder etwas ausgeglichen wird, so übertrifft die Keimzahl im Käse diejenige der gleich alten, aber unbearbeiteten Milch um das 3—4fache. Dies Verhältnis bleibt bis zum Ende des Reifens. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Fay, A. C., A modification of the method for the direct microscopic examination of ice cream and other dairy products. (Journ. of Dairy Science. Vol. 16. 1933. p. 311—313.)

Man verfährt folgendermaßen:

$^1/_{10}$ ccm der Probe wird auf einen chemisch reinen Objektträger des gebräuchlichen Standardformats gegeben, dann fügt man 2—3 Tropfen sterilen (oder auch gekochten) Wassers zu und verstreicht das Gemenge gleichmäßig über die ganze Oberfläche des Objektträgers. Nach Trocknen wird in der üblichen Weise nach Breed oder Newmann entfettet und gefärbt. Wenn der Durchmesser des mikroskopischen Gesichtsfeldes auf 0,157 mm eingestellt wird, erhält man die Keim- bzw. Zellenzahl pro ccm durch Multiplikation des Zählungsdurchschnittswertes mit 1 Million. Bei der sog. „Streifen“methode zählt man alle Keime bzw. Zellen in einem beliebigen geraden Streifen, der von der einen Längskante des Objektträgers senkrecht zur anderen Längskante verläuft. In diesem Fall errechnet sich die Keimzahl pro ccm durch Multiplikation der sämtlichen in den Streifen gefundenen Keime mit 4900. In solchen Fällen, wo man eine verhältnismäßig geringe Keimzahl vermuten darf, empfiehlt es sich, 0,2 ccm des Materials anstatt nur 0,1 auszustreichen (in diesem Fall muß bei der Berechnung der Keimzahl die entsprechende Korrektur angebracht werden).

Die Vorteile der geschilderten Modifikation sind folgende: 1. benötigt man keine Spezialkapillarpipetten, 2. erübrigt sich das mühsame Auswiegen von 0,01 g auf dem austarierten Objektträger, 3. kommt die Benützung der Ausstrichschablone in Wegfall, 4. sind wegen der Dünne der Schicht die Schwierigkeiten behoben, die sich besonders bei dichteren fetthaltigen Ausstrichen ergeben, 5. ist es bei Anwendung der „Streifen“methode nicht notwendig, die Zahl der ausgezählten Gesichtsfelder zu notieren. 6. läßt sich das Verfahren in gleicher Weise auch bei gewöhnlicher Milch und Kondensmilch durchführen. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Wallace, G. J., and Rhoda Crouch, Microbiology of frozen foods. VI. The survival of pathogenic microorganisms in ice cream. (Journ. of Dairy Science. Vol. 16. 1933. p. 315—316.)

Außer Tuberkelbakterien und Wechselfieberbazillen wurden auch Paratyphusbakterien in die Untersuchung mit einbezogen (Salmonella enteritidis und Salmonella aertryke). Nach Infektion der Eiskremproben mit Reinkulturen dieser Organismen wurden jene bei — 23,2° C aufbewahrt. Von Zeit zu Zeit erfolgte Probenahme und Prüfung auf Lebens-

fähigkeit der verschiedenen Organismen (auf kulturellem Wege oder im Tierversuch). Es zeigte sich, daß alle untersuchten Organismen nach 30 Monate dauernder Aufbewahrung in „cold storage" noch am Leben waren und daß die Paratyphus- und Wechselfieberorganismen auch noch einer Einwirkung von 36 Monate widerstehen. Auf Grund dieser Resultate darf behauptet werden, daß Rahmeis kein hygienisch sicheres Nahrungsmittel ist bloß deswegen, weil es gefroren ist.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Olson, H. C., and Hammer, B. W., The agar disc method for studying the contamination from metal surfaces. (Jowa State College of Agriculture Bulletin Nr. 300 [1933].)

Das angewendete Verfahren ist im Prinzip dasselbe, wie es von den Verff. an anderer Stelle für die Kontrolle der Butterfaßoberfläche vorgeschlagen worden ist:

Auf 43° C abgekühlter 2,5proz. Agar wird auf die zu untersuchende Metalloberfläche gegossen und erstarren gelassen. Es erübrigt sich, die betreffende Stelle vorher mit sterilem Wasser anzufeuchten, wie dies beim Holz notwendig ist. Mit Hilfe eines sterilen Metallspatels wird dann die erstarrte Agarscheibe abgehoben und umgewendet in eine sterile Petrischale zur 4tägigen Bebrütung bei 21° C gebracht. Die Anzahl der ausgewachsenen Kolonien wird pro 1 qcm angegeben.

Bei Anwendung der Methode zeigte sich, daß Metalloberflächen, die lediglich mit heißem Wasser behandelt worden sind, sehr reichlich Kolonien auswachsen lassen. Diese treten nicht mehr auf, wenn die Kannen oder Leitungsröhren auch noch eine Ausdämpfung erfahren haben. Die lediglich mit Heißwasser gewaschenen Metalloberflächen lassen mit Vorliebe sporenbildende Bakterien und Schimmelpilze auf den Agarscheiben zur Entwicklung kommen (falls die Untersuchung unmittelbar nach dem Waschprozeß vorgenommen wird; denn später gesellt sich Luftinfektion hinzu). Die Ergebnisse sind durch 18 instruktive Photographien belegt. — Der Vorzug der Methode besteht darin, daß sie auch draußen bei der Kontrolle der Betriebe leicht anwendbar ist, da sie verhältnismäßig wenig Zeit und Material benötigt, außerdem eignet sie sich wegen der Anschaulichkeit der Resultate sehr gut für Belehrungszwecke gegenüber dem bakteriologisch weniger geschulten Molkereipersonal.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Janensch, J., Biologische Mitteilungen. Abhängigkeit der Haltbarkeit der Biere vom Keimgehalt der Würzen und Anleitung zur systematischen Probenahme von Würzen zur biologischen Untersuchung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 172—175 u. 177—181.)

Dem biologischen Zustand der Würze wird häufig zu wenig Bedeutung zugemessen, da fälschlicherweise vorausgesetzt wird, daß in der Würze vorhandene Keime bei der Gärung mit Hefe abgetötet werden. Termobakterien, Torula- und Apiculatushefen verschwinden auch in den meisten Fällen, wenn sie nicht in übermäßiger Menge vorhanden sind, wilde Hefen, Stäbchenbakterien und Sarzinen dagegen gehören zu den gärbeständigen Organismen und können nach beendigter Gärung die Haltbarkeit des Bieres gefährden, auch wenn sie ursprünglich in der Würze nur in Spuren vorhanden waren. Als mögliche Infektionsquellen für die Würze kommen die verschiedenen Leitungswege, die zutretende Luft und das Wasser, mit dem die Kühlschiffe und Leitungen gereinigt werden, in Frage. Es ist anzustreben, die Würze so keimarm wie

möglich in den Bottich hineinzubringen, denn oft sind, wie interessante Versuchsprotokolle der Verf.n zeigen, schädliche Keime der Würze der Ausgangspunkt für spätere Kalamitäten. Sie in geringen Mengen zu erkennen, ist nicht immer leicht und erfordert häufig die Anwendung besonderer Untersuchungsmethoden. Für einen allgemein orientierenden Überblick über den biologischen Zustand einer Betriebswürze leistet die Lindnersche Tröpfchenkultur sehr gute Dienste, zum besonderen Nachweis etwa vorhandener wilder Hefe bedient man sich der Würze-Weinsäurekultur und zur Ermittlung von Stäbchen und Sarzinen der Hefenextraktkultur. Eine richtige Probenahme umfaßt den ganzen Würzelauf einmal zu Beginn, einmal gegen Ende an allen maßgebenden Stellen, nämlich dem Kühlschiff selbst, auf dem die Würze abkühlt, am oberen und unteren Teil des Berieselungskühlers, am Einlauf in den Gärbottich und aus diesem selbst. Wo etwa eine verborgene Infektionsquelle vorhanden ist, wird sie auf diese Weise sicher ermittelt. Heuß (Berlin).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Escherisch, K., Mehr Verständnis für Pflanzenkrankheiten! Wo bleiben die Lehrstühle für Schädlingskunde bzw. Pflanzenpathologie an unseren Landwirtschaftlichen Hochschulen? (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 167—168 und 180.)

Verf. empfiehlt den Ausbau der Phytopathologie an den Landwirtschaftlichen Hochschulen nach dem Muster der entsprechenden Einrichtungen an den Forstakademien. R. Koch (Berlin).

Hus, P., Ziekten en beschadigingen van klein fruit. [Krankheiten und Beschädigungen von Beerenobst.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 6. 1933. S. 122—157, mit 6 Taf.)

In dieser Abhandlung gibt Verf. eine ausführliche Besprechung der Krankheiten und Beschädigungen, durch Tiere und Pilze verursacht an Beerenobst, wie Johannisbeere, Erdbeere, Himbeere und Stachelbeere, unter Angabe erprobter Vorschriften zur Bekämpfung derselben.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Newcomer, E., and Carter, R., Casein ammonia, a practical emulsifying agent for the preparation of oil emulsions by orchardists. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 4. 1933 8. p. 880—887.)

Die auf Apfelbäumen sowohl bei der Sommer- wie bei der Winterspritzung sehr erfolgreich angewendete, von dem Obstgärtner selbst herzustellende Emulsion besteht aus Öl, Wasser, fein gepulvertem Kasein und Ammoniak im Verhältnis 100 : 33 : 3 : 1. Die Herstellung wird genau beschrieben, sie erfolgt unter starkem Druck. Der einzige Fehlschlag, der eintreten kann, ist die Entstehung einer umgekehrten (Wasser in Öl-) Emulsion, die gewöhnlich dann eintritt, wenn zuviel Öl hinzugefügt wird oder wenn eine zu kleine Quantität in einem großen Gefäß angerührt wird. Die Kosten sind geringer als die der gekauften Emulsionen.

K. Friederichs.

Essig, E. O., Insects and agriculture. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 4. 1933 8. p. 869—872.)

Verf. prüft die Berechtigung der Behauptungen, daß die schädlichen Insekten immer mehr zunehmen, immer mehr Schaden anrichten und immer schwerer zu bekämpfen seien, an den Verhältnissen in Kalifornien. Er schildert die Entwicklung des dortigen Ackerbaues. Nicht weniger als 180 Nutzpflanzen, die sämtlich landfremd sind, werden angebaut; für jede derselben läßt sich ein Landesteil ausfindig machen, wo sie in besonders großer Menge angebaut wird. Von den schädlichen Insekten sind mindestens 227 Arten eingewandert oder eingeschleppt, nur etwa 50 einheimisch. Die Riesenflächen, die mit einer und derselben Pflanzenart bebaut werden und das Fehlen regelmäßigen Fruchtwechsels, begünstigen die Insekten aufs höchste. Jedoch haben die Maßnahmen zur Bekämpfung einen hohen Grad von Vollkommenheit erreicht. „Es besteht kein Zweifel, daß die Insekten an Menge und Schädlichkeit während des letzten Jahrhunderts zugenommen haben. Ihre Angriffe sind regelmäßiger und beständiger geworden und die jetzt höheren Ansprüche des Marktes machen die Bekämpfung immer schwieriger und teurer." Da nicht nur die Quantität, sondern auch die Qualität der Produkte leidet, so muß die Bekämpfung unvermindert fortgesetzt werden. K. Friederichs.

Petherbridge, F. R., Dusting for pest and disease control in the United Staates and Canada. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 40. 1933. p. 209—215.)

Verf. berichtet über eine Reise zum Studium der Methoden zur Bekämpfung pilzlicher und tierischer Schädlinge. Die Verwendung von Flugzeug zur Bestäubung von Citrus-Beständen hat in Kalifornien stark abgenommen. Das ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Bestäubung nachts günstiger ist als am Tage. Die zur Verwendung kommenden Verstäuber bestäuben z. T. in einer Nacht etwa 40 ha. Die alleinige Anwendung von Stäubeschwefel gegen Fusicladium ist ebenfalls stark zurückgegangen. Vielfach wird er noch als Zwischenbehandlungsmittel angewendet. Besonders wenn bei feuchter Witterung das Spritzen nicht möglich ist. Bestäuben vor dem Regen ist besser als nach dem Regen. Bei warmem Wetter war die Wirkung gegen Braunfäule und Mehltau gut. Stäubeschwefel wird in Kalifornien in Gegenden mit hohen Temperaturen gegen Citrus-Thrips angewendet. Gegen Oligonychus ulmi ist Stäubeschwefel infolge der niederen Temperaturen in den Küstengegenden nicht genügend wirksam. Kupferstäubemittel, die meistens aus 1 Teil wasserfreiem Kupfersulfat und 8 Teilen gelöschtem Kalk bestehen, kommen in erster Linie gegen Phytophthora zur Anwendung. Nikotinstäubemittel — meistens Nikotinsulfat enthaltend — werden gegen Blattläuse und Käfer verstäubt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Picbauer, R., Additamentum ad floram Jugoslaviae mycologicam II. (Práce moravské přírodovědecké společnosti. T. 7. Schrift 12.) [Lateinisch.]

Die Schrift nennt eine große Anzahl von Pilzen, die in Bosnien, Herzegowina und Dalmatien gesammelt worden sind und gibt die Wirtspflanzen und die Standorte an. Als neue Art wird Dothidella Dalmatica von Blättern von Globularia alypi L. beschrieben.

Bojanovsky (Brünn).

Beinroth, Fr., Der Hausschwamm. Eine Anleitung zum Erkennen desselben. (Sonderdruck aus Mikroskopie f. Naturfr. Jahrg. 11. 1933. Heft 2, 3, 4, m. 10 Abb.)

Eine recht brauchbare Anleitung zur sicheren Diagnose von Merulius lacrimans Schum. auf Grund mikroskopisch-morphologischer Merkmale, wie sie auch von Falk eingehend beschrieben worden sind. Die einzelnen Abschnitte betreffen den Fruchtkörper, die Sporen, die Plattenfasern, die Stränge, das Myzel, das Substrat. (Verf. schreibt „einen sog. Mauerschwamm gibt es nicht". Schon recht. Aber, wenn die Fruchtkörper des echten Hausschwammes dem Mauerwerk aufsitzen, was doch nicht allzu selten vorkommt, werden sie in der Praxis doch vielfach als Mauerschwamm bezeichnet. D. Ref.) Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Möhring, K. und Kleinheinrich, Starke Schädigungen an Freilandtulpen durch Pockenkrankheit. (Gartenwelt. Jahrgang 37. 1933. S. 278, m. 1 Abb.)

Außerordentlicher Schaden wird neuerdings durch die sog. Pockenkrankheit oder Brand, verursacht durch Botrytis tulipae, an Tulpen angerichtet. Von 45 Tulpensorten wird angegeben, wieviel Prozent derselben dadurch vollkommen vernichtet wurden, z. B. Louise de Vallière 2%, Pride of Haarlem 67%. Die Krankheitssymptome sind ziemlich verschiedenartig. Es werden Maßnahmen zur Bekämpfung angegeben. Stickstoffdüngung und zu lehmiger Boden sind zu meiden.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Thomas, H. E., The quince-rust disease caused by Gymnosporangium germinale. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 546—553, 1 fig.)

Verf. fand außer auf den bereits früher mitgeteilten Wirtspflanzen Gymnosporangium germinale noch auf Crataegus arnoldiana, C. beata, C. brainerdi, C. calpodendron, C. filipes, C. holmesiana, C. monogyna. Verschiedene Anfälligkeit wurde besonders bei einzelnen Zederbäumen beobachtet. Bäume, die für Gymnosporangium germinale anfällig waren, waren verhältnismäßig resistent gegen G. juniperi-virginianae und G. globosum. Aecidiosporen wurden gelegentlich im April beobachtet. Gute Keimfähigkeit der Sporen wurde bei 15—18° C erzielt. Die Inkubationszeit betrug bei Crataegus-Blättern 5—8 Tage, bei Apfelblättern war sie wesentlich länger. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Winkelmann, A., Eine Methode zur Prüfung von Mitteln gegen Fusarium im Laboratorium. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Bd. 13. 1933. S. 49—50.)

Beschreibung einer Methode, die es ermöglicht, spätestens nach 5 Tagen die Wirkung von Mitteln gegen Fusarium zu beurteilen. Die gebeizten Körner werden auf Hafermehl-Agar, dem außer Glyzerin und Milchsäure noch ein Farbstoff — Methyl- oder Gentianaviolett — zugesetzt wird, ausgelegt. Verwendet wird natürlich infiziertes Saatgut. Bei der Auszählung werden stark, mittelstark, schwach und nichtbefallene Körner unterschieden. Durch den Zusatz des Farbstoffes wird die Entwicklung des Fusariums zwar auch etwas gehemmt, es werden aber gleichzeitig andere Pilze zurückgehalten.

Autoreferat.

Wiesmann, R., Über ein Knospensterben an Apfelbäumen. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 42. 1933. S. 235—238, m. 1 Abb.)

In der Schweiz zeigte sich im Frühling 1931 und 1933 an verschiedenen Apfelsorten, besonders an Boskoop (bis 97%), ein Absterben der unmittelbar vor dem Austreiben stehenden Blütenknospen. In den Knospen fand sich stets massenhaft ein Stäbchenbakterium, fast immer auch ein Fusarium, das jedoch nicht mit Fus. gemmiperda Ad. identisch war. Das Knospensterben trat sowohl an mit Obstbaumkarbolineum bespritzten wie an unbespritzten Bäumen auf. Eine weitere Erforschung der Krankheit ist beabsichtigt. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Wiesmann, R., Der Spät- oder Kahlschorf der Birnblätter und seine Bedeutung für die Überwinterung des Birnschorfpilzes. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 69. 1933. S. 18—23, m. 4 Abb.)

Als Kahlschorf, ausgezeichnet durch Fehlen von Konidienrasen, tritt im Oktober eine besondere Wuchsform von Fusicladium pyrinum auf den Blättern sowohl von Sorten auf, die auch im Sommer anfällig sind, wie auf solchen Sorten, die sonst widerstandsfähig sind, z. B. Schweizer Wasserbirne, Gelbmöstler, Grünmöstler. Perithecien entstehen jedoch nur auf den überwinterten Blättern solcher Sorten, die bereits im Sommer von Fusicladium befallen werden. Der Kahlschorf tritt zuweilen epidemisch auf: die Blätter fallen dann 8—14 Tage früher grün oder halbgrün ab, z. B. bei der Theilersbirne. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Osterwalder, A., Schorfbekämpfungsversuche im Sommer 1932. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 69. 1933. S. 135—137, 157—162.)

Es wird über die Ergebnisse von Bespritzungen mit Kalkarseniat- und Bleiarseniat-Schwefelkalkbrühe zur Bekämpfung von Fusicladium und Obstmaden berichtet. Kalkarseniat hat sich dabei keineswegs als minderwertig erwiesen. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Babel, A., Verbrennungen an Apfelblättern? (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 79. 1933. S. 92.)

Runde braune Flecke an Apfelblättern, die meist für Verbrennungen gehalten werden, werden zuweilen durch Phyllosticta (Ph. mali bzw. pirina) hervorgebracht. Als Gegenmaßnahme kommen Bespritzungen mit Kupfermitteln in Frage. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Jermieß, Bekämpfung der Braunfleckenkrankheit der Tomaten mit Hilfe des Schwefelvernebelungsapparates „Sulfurator". (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 79. 1933. S. 89—90.)

In einem Tomatenhaus ließ sich das Auftreten von Cladosporium fulvum durch von Anfang Juni bis Ende August alle 3 Wochen erfolgendes Schwefeln mittels des Apparates „Sulfurator" nahezu völlig verhindern. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Osterwalder, A., Die Bekämpfung der Schrotschußkrankheit an Kirschbäumen mit Schwefelkalkbrühe und Kalkarsen nach Versuchen im Sommer 1932. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 42. 1933. S. 123—126.)

Die Versuchsbäume wurden gegen Clasterosporium und Raupen kurz vor dem Aufblühen und nach dem Aufblühen, am 26. April und 19. Mai, mit 2½proz. Schwefelkalkbrühe, der auf 100 l 400 g Kalkarsen zugesetzt war, und am 25. Mai mit gleicher Brühe ohne Arsenzusatz gespritzt. Clasterosporium und Raupen wurden dadurch völlig ausgeschaltet. Die Kosten der 3maligen Bespritzung betrugen etwa 1½ Franken je Baum.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Triquart, J., Bekämpfung der Monilia an Sauerkirschen. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 79. 1933. S. 73—74, m. 2 Abb.)

Bei stark kalkhaltigem Untergrund, nötigenfalls reichlichen Kalkgaben, guter Bodenbearbeitung, richtiger Düngung, sachgemäßem Schnitt, Verbrennen alles Abgeschnittenen, sowie der Fruchtmumien richtet die Monilia nach den Erfahrungen des Verf.s größere Schäden nicht an.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Kordes, H., „Sclerotinia-Welke" der Treibhausgurken. (Obst- u. Gemüsebau. Bd. 79. 1933. S. 5, m. 2 Abb.)

Ein plötzliches Welken der Treibhausgurken wird nach Verf. meist durch Sclerotinia sclerotiorum verursacht. Durch frühzeitiges Ausschneiden der erkrankten Stengelteile und Überstreichen der Schnittstellen mit Baumwachs sollen sich die Pflanzen retten lassen. Ferner kommt Verbrennen alles Gurkenkrauts nach der Ernte und Ausspritzen der Häuser mit 1% Formalinlösung in Frage. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Riefenstahl, S., Wachsende Verluste durch die Hartfäulekrankheit der Gladiolen. (Gartenwelt. Bd. 37. 1933. S. 314.)

Manche Gladiolussorten sind der Septoria gladioli in den letzten Jahren, durch feuchte Sommer begünstigt, restlos zum Opfer gefallen. Sorte War war etwa 90% krank, Schwaben 60%, Jakoba v. Bayern 60%, Red Canna 30—40%, Halley 20%, Amerika 10—20% krank. Widerstandsfähig: Master Wietze, Golden West, Yellow Standard, Panama, Willbrink. Von Primulinus-Sorten nur Scarletta befallen. Regelmäßiger Standortswechsel und völlig gesundes Pflanzgut kommen als Gegenmaßnahmen in erster Linie in Frage, außerdem Beizen der Knollen mit Uspulunlösung, 0,15—0,20proz. 1½—2½ Stunden.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Reydon, G. A., Een bladziekte bij de koffie. [Eine Kaffeeblattkrankheit.] (De Bergcultures. 1933. Nr. 27. S. 758—762.)

Verf. beschreibt den bis dahin unbekannten Fall einer Blattkrankheit bei Kaffee, verursacht durch Rhizoctonia solani K. Dabei entstehen auf den Blättern anfangs graue bis schwarze, scharf berandete, etwas eingesunkene Flecke zwischen den Blattnerven, welche eigentümlicherweise auf beiden Seiten des Blattes dieselbe Farbe zeigen und deshalb sich scharf von dem gesunden Gewebe abheben. Später haben die Flecke sich etwas ausgebreitet und das befallene Gewebe wird rissig und stirbt ab. Als Ursache wurde Rhizoctonia spec. gefunden, wahrscheinlich ein Stamm zu Rh. solani K. gehörig. Der angerichtete Schaden ist verschieden, bis jetzt aber noch nicht erheblich. In schweren Fällen wird die Bekämpfung mittels Bordeaux-Brühe zum Ziele führen.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Goossens, J., Alternaria-droogrot van aardappelknollen. [Alternaria-Trockenfäule von Kartoffelknollen.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 7. 1933. S. 165—172, mit 2 Taf.)

Verf. beschreibt das Vorkommen von Alternaria (Macrosporium) solani (E. et M.) Jones et Gr. auf den Knollen und Blättern der Kartoffel. Durch Infektionsversuche stellte sich heraus, daß Alternaria eine tiefgehende Trockenfäule verursachen kann. Dieselbe Krankheit, auf den Blättern auftretend, nennt man in Amerika Early Blight, in Deutschland Dürrfleckenkrankheit, auf den Knollen auftretend in Australien Storage Disease; sie verursacht in allen Fällen großen Schaden. Die Bekämpfung der Krankheit geschieht durch Besprühen der Blätter mit Bordeauxbrühe, wodurch auch einer späteren Infektion der Knollen vorgebeugt wird.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Jong, W. H. de, Het parasitisme van Rigidoporus microporus (Swartz) van Overeem, Syn.: Fomes lignosus Klotsch, bij Hevea brasiliensis. [Der Parasitismus von R. microporus bei Hevea brasiliensis.] (Archief v. d. Rubbercultuur in Ned. Indie. 1933. Nr. 4—6. S. 83—98.)

In den Hevea-Anpflanzungen an der Ostküste von Sumatra wurde häufiger Befall der Hevea-Wurzeln durch Rigidioporus festgestellt. Infektionsversuche mit diesem Pilze in Reinkulturen auf Agar oder Holzstückchen ergaben zwar gutes Wachstum des Myzels, aber keine Wurzelfäule, ebensowenig Infektion mit Fruchtkörpern des Pilzes, auch dann nicht, wenn die Wurzeln verletzt wurden. Schließlich stellte sich heraus, daß nur in solchen Fällen eine richtige Wurzelfäule entsteht, wenn man von dem Pilze zersetztes Holz, wie es in den Anpflanzungen vorkommt, als Impfmaterial verwendet, und zwar in solcher Menge, daß die Bäume schon richtig geschwächt sind, bevor das Impfmaterial selbst verschwunden ist. Daraus geht hervor, daß der betreffende Pilz, trotz des großen Schadens, den er anrichtet, nur ein schwacher Parasit für Hevea-Bäume ist. Außerdem müssen auch andere Faktoren, wie die Zusammensetzung und der Zustand des Bodens (Säuregrad, Flora usw.) für die Entwicklung des Pilzes günstig sein. Für die Bekämpfung des Übels in der Praxis müssen diese Faktoren jeweils an Ort und Stelle studiert werden.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Stieltjes, D., Dilophora-ziekte van grassen en granen. [Dilophora-Krankheit von Getreide und Gräsern.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 8. 1933. S. 200—206, mit 3 Taf.)

Verf. studierte das Vorkommen von Dilophora graminis auf Hafer, welche Krankheit von dem Plantenziektenkundigen Dienst bis jetzt in Holland noch nicht konstatiert worden ist. Im allgemeinen wird angenommen, daß die Sporen des Pilzes durch Älchen, Tylenchus tritici, auf die jungen Weizenpflänzchen übertragen werden (Dr. Atanasoff, diese Ztschr., Heft 9, 1924). Bei den angestellten Feldversuchen mit Hafer konnten aber keine Älchen nachgewiesen werden, wohl stellte sich heraus, daß die von befallenen Feldern stammende, selbstgewonnene Saat die Krankheit von neuem hervorruft, während hochwertige Saat von nicht befallenen Feldern dieselbe nicht aufkommen läßt. Da die von verschiedenen Getreidearten gewonnenen Pilzsporen artfremdes Getreide nicht anzustecken ver-

mögen, ist die Möglichkeit, daß es verschiedene Biotypen gibt, nicht von der Hand zu weisen. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Huisman, Tj. J., De gewone schurft van de aardappelknol. [Der gemeine Kartoffelschorf.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 7. 1933. S. 173—186.)

Erhöhtes Interesse für schorffreies Saatgut im Auslande gab dem Verf. Veranlassung, das Studium des Schorfes von neuem aufzunehmen. Die Krankheit, welche nur wachsende Knollen befällt, wird verursacht durch Aktinomyzeten (Thaxter, Wollenweber). Die Optimaltemperatur dieser Organismen liegt bei 25—30° C.

In der Praxis fand man, daß Gründüngung die Entwicklung der Krankheit hemmt, was man dadurch erklärt, daß hierdurch saprophytische Aktinomyzeten sich stark vermehren können, so daß das Wachstum von Actinomyces scabies verhindert wird. Auch Schwefel wird mit wechselndem Erfolge angewendet. Alkalische Düngemittel können das Auftreten der Krankheit begünstigen, auch sind dünnschalige Kartoffelsorten der Krankheit mehr ausgesetzt wie dickschalige. Da über die letzten Ursachen der größeren oder geringeren Resistenz der Kartoffelsorten noch keine Einstimmigkeit herrscht, werden weitere Versuche nötig sein, das Wesen der Krankheit vollständig aufzuklären.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Spierenburg, Dina, Een ziekte in het zeegras, Zostera marina L. [Eine Krankheit des Seegrases.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 8. 1933. S. 193—199, mit 1 Taf.)

Verf.n berichtet über eine, dem Plantenziektenkundigen Dienst unbekannte Krankheit des Seegrases, welche im Nachsommer 1932 beobachtet wurde. Die Blätter werden vorzeitig braun, die Luftkammern fallen zusammen, so daß die Blätter zu Boden sinken. In Frankreich, wo die Krankheit ebenfalls auftrat, wurde aus den kranken Blättern ein Bakterium isoliert von der Gestalt eines gramnegativen Stäbchens, 1,5—4 μ lang und 0,5 μ breit. Diese Bakterien können, infolge der anatomischen Beschaffenheit der Blätter sehr leicht in dieselben eindringen. Der Beweis, daß diese Bakterien in der Tat die Krankheit verursachen, wurde von den französischen Forschern jedoch nicht erbracht. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Schellenberg, H., Zur Behandlung mäuchiger Reben. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 69. 1933. S. 23—24.)

Durch die bekannte Mauche (Grind) werden Reben mehr oder weniger geschwächt, nicht selten zum Absterben gebracht. Nicht allzustark erkrankte Reben können durch Abkratzen der befallenen Stellen und Bestreichen mit 20—25% Eisenvitriollösung gerettet werden. Auch Entwässern zu feuchter Lagen und Düngung sind von Nutzen. Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Clinch, Phyllis, Cytological studies of potato plants affected with certain virus diseases. (Sci. Proceed. Roy. Dublin Soc. Vol. 20. 1932. 143—172, 5 Taf.)

In den hellen Teilen der mosaikgefleckten Blätter von Kartoffelpflanzen, die mit „simple mosaic", „intervenial mosaic" und „crinkle" behaftet sind, ist die Entwicklung der Zellen gehemmt, diese Teile sind deshalb dünner als das übrige Blatt. Auch die Ausbildung der Chloroplasten ist gehemmt,

diese sind häufig kleiner und weniger zahlreich als in den entsprechenden gesunden Zellen. Beim Aucubabunt ist die chlorotische Verfärbung eine Folge des Verlustes an Chlorophyll, sie geht einher mit der Einlagerung großer Mengen von Stärke in die Plastiden und einer Veränderung von deren Struktur. In den chlorotischen Teilen mosaikkranker Blätter tritt Tannin und Fett in überraschend großer Menge auf. Die Wellungen und Kräuselungen der Blattfläche sind auf das gehemmte Wachstum der Nerven zurückzuführen, das mit der Entwicklung des übrigen Blattes nicht Schritt hält. Die bei streak-kranken Pflanzen auftretenden Nekrosen gehen von Phloëmgruppen aus und verbreiten sich von da auf das Nachbargewebe. — Die Verteilung der Stärke im blattrollkranken Blatt wurde näher untersucht. — X-Körperchen finden sich in den chlorotischen Teilen bei den Krankheitstypen simple mosaic, interveinial mosaic, crinkle und streak, nicht jedoch bei aucuba-Mosaik und Blattroll, und auch nicht in den Zellen gesunder Pflanzen. Ihre Entstehung kann vielleicht als die Folge eines veränderten Viskositäts-Zustandes des Plasmas gedeutet werden. Sie sind nicht als die Ursache, sondern lediglich als eine Begleiterscheinung der betreffenden Krankheiten anzusehen. E. Köhler.

Murphy, P. A., A critical review of some recent work on the occurrence of virus complexes in the potato. (Sci. Proceedings Roy. Dublin Soc. Vol. 18. 1932. 193—210.)

Die Richtigkeit der von K. M. Smith vorgetragenen Auffassung, daß an der Verursachung der als Mosaik, Kräuselkrankheit und Strichelkrankheit (Streak) bezeichneten Viruskrankheiten der Kartoffel keine anderen als die zwei Viren X und Y Anteil hätten, wird bestritten. Diese Auffassung steht mit den tatsächlichen Befunden nicht im Einklang. Der Nachweis, daß eine bestimmte Krankheit durch das Zusammenwirken von bestimmten Einzelviren zustande kommt, kann nur auf dem Wege der Synthese erbracht werden. Durch Übertragung auf den Tabak können die Viren Veränderungen erfahren, so daß durch ihre Synthese auf der Kartoffel die ursprüngliche Krankheitsform nicht wieder hervorgerufen werden kann. Es wäre unzulässig, die voneinander abweichenden Krankheiten zu identifizieren. E. Köhler.

Murphy, P. A., and **M'Kay, R.**, The compound nature of crinkle, and its production by means of a mixture of viruses. (Sci. Proceedings Roy. Dublin Soc. Vol. 20. 1932. 227—247, 3 Taf.)

Verff. berichten über den Nachweis eines neuen Kartoffelmosaikvirus „A", das in Kombination mit verschiedenen anderen Mosaikkrankheiten Kräuselkrankheit und zwar je nach der gewählten Kombination verschiedene Formen von Kräuselkrankheit erzeugt. Bei Pfropfübertragung der Kräuselform auf andere Kartoffelsorten kam es vor, daß die eine Komponente ausfiel, so daß ein einfaches Mosaik resultierte. Bei Übertragung des A-Mosaiks auf Datura Stramonium und auf den Tabak erschienen an diesen Arten keine Symptome. E. Köhler.

Pape, H., Die Mosaikkrankheit der Lilien. (Gartenwelt. Jahrg. 37. 1933. S. 324—325, 364, m. 4 Abb.)

An Lilium longiflorum zeigen sich hellgrüne Sprenkelungen

der Blätter, oft auch Verkrümmungen, Trocken- und Braunwerden derselben. Die Blüten sind oft verkrüppelt, die ganze Pflanze klein und gestaucht. Das Virus soll durch Aphis gossypii übertragen werden. Bei Temperaturen unter 22°, auch in schattigen, kühlen Beetlagen, sind die Blattverkrümmungen ausgeprägter als bei höheren Temperaturen. In einer schleswig-holsteinschen Gärtnerei zeigte sich nur L. longiflorum var. formosanum erkrankt, dagegen L. longiflorum var. erabu, L. auratum u. a. gesund. Es werden Vorbeugungsmaßnahmen angeraten.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Hutchins, Lee M., Identification and control of the phony disease of the peach. (Office of State Entomologist, State Capitol, Atlanta, Georgia. Bull. 1933. Nr. 78. 55 S., 17 Abb.)

Der Phonykrankheit (ursprünglich Ponykrankheit) sind im Laufe von weniger als 10 Jahren im Staate Georgia und den angrenzenden U.S.A.-Südstaaten über 1 Million Pfirsichbäume zum Opfer gefallen. Es handelt sich um eine Viruskrankheit, die drei anderen länger bekannten Viruskrankheiten des Pfirsichs (Yellows, Rosette und Little peach) ätiologisch jedenfalls nahe steht. Die künstliche Übertragung gelingt leicht durch Wurzelpfropfung, wobei die Transplantation von kleinen Wurzelstückchen auf die Wurzeln gesunder Bäume genügt. Die natürliche Übertragungsweise ist noch nicht ermittelt, jedoch besteht der Verdacht, daß ein wurzelbewohnender Schmetterling, der Pfirsichbohrer (Aegeria exitiosa Say) die Übertragung bewerkstelligt. Die erkrankten Bäume gehen nicht zugrunde, auch erleiden die Blätter keine Verfärbung ins Gelbe, für gewöhnlich macht das Laubwerk sogar einen üppigeren Eindruck als beim gesunden Baum, auch sind die Blätter dunkelgrün. Das hervorstechendste Merkmal ist die Verzwergung von Ästen, Zweigen und Früchten. Letztere werden von Jahr zu Jahr kleiner und minderwertiger. Das einzige wirksame Bekämpfungsverfahren ist der Aushieb der Bäume, sobald die ersten Krankheitszeichen zum Vorschein kommen.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Bremer, H., Zur Kräuselkrankheit der Pelargonien. (Blumen- u. Pflanzenbau. Bd. 48. 1933, m. 2 Abb.)

Unter Beifügung von Abbildungen wird auf die Erscheinungen der Kräuselkrankheit, die Ungeklärtheit ihrer Entstehung und die belgischen Untersuchungen hingewiesen. Kranke Mutterpflanzen dürfen nicht zur Vermehrung verwendet werden. Nachzuprüfen ist, ob sich die Krankheit durch starke Kalkgaben bekämpfen läßt.

Laubert (Berlin-Zehlendorf).

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 13. Januar 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 21/24.
Ausgegeben am 26. Februar 1934.

Nachdruck verboten.

Über die Mykorrhiza in der Gattung Gentiana.

[Aus dem Institut für Botanik der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin. Direktor: Professor Dr. Mevius.]

Von **Gertrud Neumann.**

Mit 14 Abbildungen im Text.

Den Anstoß zu den vorliegenden Untersuchungen gab der Gedanke Stahls, daß der Grund für das Nichtgedeihen vieler Wildpflanzen in der gärtnerischen Kultur in ihrer obligaten Mykotrophie gegeben sein dürfte (31, S. 589). Als Beispiel dafür werden von ihm mehrere Gentiana-Arten und Knollenorchideen angeführt.

Während meiner Tätigkeit in einer oberbayerischen Alpenpflanzengärtnerei hatte ich häufig Gelegenheit festzustellen, daß viele Wildpflanzen äußerst schwierig in Kultur zu nehmen sind. Gerade die von Stahl erwähnten Knollenorchideen, z. B. Nigritella angustifolia, sowie manche der schönblühenden Gentiana-Arten setzen der gärtnerischen Kultur bis heute unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen.

Für die tropischen Orchideen sind diese Schwierigkeiten dank den Untersuchungen von Bernard und Burgeff, die die Keimmykotrophie dieser Pflanzen aufdeckten, so gut wie überwunden.

Die Mykotrophie der Gentianaceen indessen ist bis heute nicht näher untersucht worden. Stahl vermutet, daß auch hier eine obligate Keimmykotrophie vorliege (31, S. 592). In neuerer Zeit hat Ramsbottom (25) diese Vermutung wiederum ausgesprochen. Anatomisch-zytologische Untersuchungen liegen von Stahl selbst nicht vor. Er stellte lediglich fest, daß er bei vielen Arten die Nebenwurzeln selten unverpilzt gefunden habe. Versuche physiologischer Natur scheiterten daran, daß es ihm unmöglich war, die Samen zum Keimen zu bringen. Versuche, den Pilz aus der Wurzel zu isolieren, wurden von Stahl nicht angestellt. Neuere Untersuchungen liegen nicht vor. Jüngere Forscher begnügen sich damit, auf Stahls Angaben hinzuweisen [Rayner (26), S. 124, u. Schroeter (28), S. 530].

Über die Mykorrhiza saprophytischer Gentianaceen sind wir jedoch — dank einer Reihe von älteren Arbeiten zu Ende des vorigen Jahrhunderts — besser unterrichtet. Von Janse (10) liegt eine kurze Beschreibung der endotrophen Mykorrhiza von Cotylanthera tenuis vor. In den Rindenzellen der Wurzeln finden sich unregelmäßige Hyphenschlingen, an denen „Sporangiolen" entstehen. Darunter werden von Janse unregelmäßige sackartige Aufblähungen verstanden, die größere rundliche Körper enthalten; diese bestimmen die Form der Gebilde, werden später frei und gehen in eine granulierte Masse über. In vielen Zellen sollen sich auch „Vesikeln" neben den Hyphenknäueln finden. Dies sind nach der Definition von Janse große, apikale, kugelige Anschwellungen der Hyphen, die einen

feinkörnigen, häufig sehr fettreichen Inhalt führen. Sie stellen Reservestoffbehälter des Pilzes dar.

Der knappen Beschreibung von Cotylanthera tenuis von Janse folgte im nächsten Jahre eine ausführlichere von W. Figdor (4). Dieser beschreibt 1—2 μ starke, gelbliche Hyphen in den Zellen (es handelte sich um Alkoholmaterial), deren Enden gewöhnlich etwas angeschwollen seien. In alten Zellen sollen gelbbraune rundliche Klumpen einer fettartigen Substanz liegen, in die nadelartige Kristalle eingebettet seien. Wurde jedoch das Fett durch Petroläther oder Benzol herausgelöst, so wurde es klar, daß es sich keineswegs um Kristalle gehandelt hatte, sondern daß eingesunkene Membranen abgestorbener Hyphen damit verwechselt worden waren. Figdor nimmt an, daß Johow (11) bei seiner Beschreibung mehrerer Voyria-Arten die gleiche Verwechslung unterlaufen sei. Auch hier seien wohl eingesunkene Pilzmembranen als Kristalle angesehen worden. Johow berichtet, daß die Kristalle doppelbrechend und sehr indifferent gegen angewandte Reagentien seien. Im ganzen stimmen seine Angaben über die Mykorrhiza bei Voyria im wesentlichen mit denen von Figdor bei Cotylanthera überein. Figdor berichtet weiter, daß im Zentrum eines Hyphengewirres ein dunklerer Körper erkennbar sei, der wahrscheinlich eine sackartige Auftreibung eines Hyphenendes darstelle, um das sich dann andere Hyphen herumschlingen. Die nichtinfizierten Wurzelzellen von Cotylanthera tenuis führen einen amylodextrinartigen Reservestoff.

Weiter wird in einer Arbeit von Holm (8) angegeben, daß in den Rindenzellen von Obolaria virginica, einer nichtsaprophytischen Gentianacee, die den Übergang zu den autotrophen darstellen soll, ein Pilz in den coralloiden Wurzeln lebe. Nähere Angaben über die Vorgänge in den Zellen macht Holm indessen nicht.

Untersuchungsmaterial.

Mit eigenen Untersuchungen — zunächst über die Verbreitung der Mykorrhiza innerhalb der Gattung Gentiana — wurde im Frühjahr 1931 begonnen. Es folgten anatomisch-zytologische Untersuchungen, deren Ergebnisse mit denen über die endotrophe Mykorrhiza bei anderen Pflanzen verglichen wurden. Die physiologischen Experimente stellen im Grunde nur Vorversuche dar. Eine gründlichere Bearbeitung dieser wichtigsten Fragen mußte leider im Rahmen der vorliegenden Arbeit aus Zeitmangel unterbleiben.

Folgende Gentiana-Arten wurden an Hand von Dauerpräparaten auf das Vorhandensein einer Mykorrhiza geprüft:

Gentiana lutea	G. dahurica	G. Burseri
Gentiana purpurea	G. sineornata	G. Walujewi
Gentiana punctata	G. cruciata	G. pneumonanthe
Gentiana asclepiadea	G. pannonica	G. Clusii bzw. acaulis hort.

Außer Gentiana pneumonanthe, die aus dem Spandauer Stadtforst bei Berlin geholt wurde, stammte der größte Teil des Materials aus dem Botanischen Garten zu Berlin-Dahlem. Abgesehen von Gentiana Walujewi, Clusii und acaulis, die ausschließlich in erwachsenen Pflanzen zur Verfügung standen, handelte es sich meistens um einjährige Sämlingspflanzen aus der eigenen Anzucht des Gartens. Bei allen untersuchten Pflanzen, außer einem Exemplar von Gentiana acaulis,

das der Botanische Garten von der Gärtnerei Georg Arends, Ronsdorf, bezogen hatte, konnte ohne Schwierigkeiten eine ausgedehnte Verpilzung in den feinen 0,3—0,8 mm dicken Nebenwurzeln beobachtet werden. Nur bei dieser Arendsschen G. acaulis konnte zunächst keine Pilzinfektion festgestellt werden. Die aus Ronsdorf stammenden Pflanzen stellen nach einer Mitteilung von Georg Arends eine Gartenform der heute in mehrere Arten bzw. Unterarten [siehe Schroeter (28), S. 544, und Hegi (7), S. 2009] geteilten G. acaulis dar. Die Herkunft dieser Gartenform, die er „acaulis hortensis" nennt, ist ihm jedoch unbekannt. Jedenfalls zeigte auch dieses Material nach eingehender Untersuchung eine deutliche Mykorrhiza-Bildung, wenn auch nicht so reichlich wie die übrigen Pflanzen. Dies mag mit den Bodenverhältnissen in Zusammenhang stehen. Gentiana acaulis hort. wird bei Arends in einem schweren Lehmboden mit etwas Torfzusatz gezogen, während das übrige Material von einem an Humus sehr viel reicheren Substrat stammte.

Als Versuchspflanze diente mir in erster Linie Gentiana Clusii aus der Nähe von Bad Kreuth (Obb.) von flachem Humus auf felsiger Unterlage. Um dauernd lebendes Untersuchungsmaterial zur Hand zu haben, wurden einige Exemplare dieser Pflanzen in eine Tonschale in humose Erde gepflanzt und im Freien aufgestellt.

Ehe wir nun mit der Beschreibung der Mykorrhiza beginnen können, soll kurz auf die Anatomie der Enzianwurzel eingegangen werden. Beschrieben ist diese bisher nur von solchen Arten, die als Droge benutzt werden, und zwar von Arthur Meyer (19a u. b) und Tschirch (33); es sind: Gentiana lutea, purpurea, punctata und pannonica. Bei Perrot, der in seiner „Anatomie comparée des Gentianacées" (21) eine große Reihe von Enzian-Arten beschreibt, sind die Angaben speziell über die Wurzel recht knapp. Die Beschreibung der jungen, noch unverdickten Wurzel insbesondere ist fast durchweg vernachlässigt. Es sei daher hier kurz auf die Morphologie und Anatomie des Wurzelsystems von Gentiana Clusii eingegangen.

Anatomie der Wurzel von Gentiana Clusii.

Dieser stengellose Glocken-Enzian der Kalkalpen zeichnet sich aus durch ein feinverästeltes Faserwurzelsystem. Die Wurzeln entspringen an einem vertikalen, oftmals verzweigten Rhizom. Sie sind glatt, gelblich und nur wenig mit dem umgebenden Erdreich verbunden. Wurzelhaare sind höchst selten; nur hier und da finden sich Kränze kurzer Wurzelhaare, die oft mehrere Zentimeter vom Vegetationspunkt entfernt auftreten können.

Goebel gibt in seiner Organographie der Pflanzen (6, S. 1262) an, daß Pflanzen, die von Pilzen bewohnt sind, vielfach keine Wurzelhaare besitzen. Schwartz (29) beobachtete, daß Pflanzen von Asarum europaeum mit Mykorrhiza wenig Wurzelhaare hatten, während pilzfreie reichlich Wurzelhaare führten. Gallaud (5a), der die endotrophe Mykorrhiza in vielen Pflanzengattungen untersucht hat, fand neben vielen Pflanzen ohne Wurzelhaare viele Arten, die reichlich mit solchen versehen sind. Ich brauche nur an die von Demeter (3) untersuchte Vinca minor zu erinnern, die trotz starker Verpilzung reichlich Wurzelhaare führt. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen einer endotrophen Mykorrhiza und dem Fehlen von Wurzelhaaren läßt sich also bis heute noch keineswegs auffinden.

Die jüngsten Wurzeln von Gentiana Clusii sind 0,2—0,3 mm stark. Der Zentralzylinder nimmt in diesen etwa $^1/_4$—$^1/_5$ des Gesamtdurchmessers ein, die primäre Rinde dagegen etwa die Hälfte. Das Epiblem und die Intercutis sind nach einschichtig. Die Außenwände des Epiblems sind stark verdickt. Um über ihre chemische Natur Klarheit zu erlangen, wurden einige Reaktionen vorgenommen. Mit Chlor-Zink-Jod ergeben sie eine gelbbraune Färbung, mit Kalilauge eine intensive Gelbfärbung. Diese beiden Reaktionen lassen unter Umständen auf Suberin-Einlagerung schließen (34, S. 989). Wurden jedoch die Schnitte mit Javellscher Lauge vorbehandelt, in 1proz. HCl ausgewaschen und mit Sudan gefärbt, so trat keine Rotfärbung auf; um Suberin-Einlagerung kann es sich also nicht handeln. Auch die Untersuchung auf Amyloid fiel negativ aus (34, S. 926). Dagegen trat eine starke Reaktion mit Rutheniumrot, dem Reagens für Pektine, auf (39, S. 930). Nicht nur die Außenwände, sondern auch die Radialwände färbten sich intensiv rot.

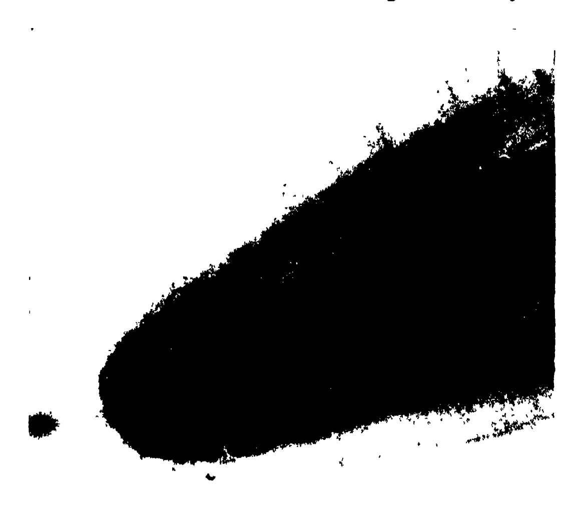


Abb. 1. Wurzelspitze einer jungen Wurzel von Gentiana Clusii. Die Suberinlamelle der Interkutis tritt durch die Sudanfärbung klar hervor.

Das Vorkommen von Pektinen im Epiblem ist in der älteren Literatur meines Wissens nicht erwähnt, selbst Kroemer (13) erwähnt nichts Derartiges. Neuerdings hat C. Howe (9) Pektose und Ca-Pektat in den Wurzelhaaren vieler Kulturpflanzen gefunden. Auch K. Demeter fand Pektin in den Wurzelhaaren und Epiblemzellen von Vinca minor (3, S. 408). Weiterhin ergab eine Untersuchung mit Corallinsoda (33, S. 918) unregelmäßige, oft pfropfenartige Auflagerungen von Callose an der Innenseite der Außenwand, die jedoch keineswegs in jeder Epiblemzelle auftreten. Über die Bedeutung dieser Callose-Auflagerungen — etwa in Zusammenhang mit der Pilzinfektion — kann leider noch nichts Brauchbares mitgeteilt werden.

Die Intercutis setzt sich aus rechteckigen, in Längsrichtung der Wurzel langgestreckten Zellen zusammen, zwischen die in unregelmäßiger Folge Kurzzellen eingeschaltet sind. Von einem schachbrettartigen Aufbau, wie ihn Demeter (3, S. 406) für Vinca und die Asclepiadaceen beschreibt, kann bei Enzian nicht die Rede sein.

Die Wände der Intercutiszellen sind gleichfalls verdickt. Die Langzellen unterscheiden sich von den Kurzzellen lediglich durch den Besitz einer Suberinlamelle. Die Kurzzellen fungieren im Jugendstadium als Durchlaßzellen; später verkorken auch sie.

Diese Suberinlamelle findet sich seltsamerweise auch unmittelbar am Vegetationspunkt in der Art, daß sie innerhalb des Epiblems die ganze

Wurzelspitze umhüllt (Abb. 1). Um eine Metakutisierung im Sinne M. Plauts (23) kann es sich wohl kaum handeln, da auch Wurzelspitzen, die im Juli aus dem Alpinum des Botanischen Gartens, Berlin-Dahlem, genommen wurden, die gleiche Erscheinung zeigten. Es sei denn, daß es sich um eine vorübergehende Kutisierung, etwa infolge einer Trockenperiode, gehandelt habe.

Nach mehrstündiger Vorbehandlung in Javellscher Lauge wurden insgesamt 20 Wurzelspitzen mit Sudan gefärbt und in verdünntem Glyzerin untersucht. Die meisten stammten von ganz kurzen — z. T. erst gerade hervorgebrochenen — Nebenwurzeln. Nur bei zweien begann die Kutinlamelle der Interkutis erst dicht hinter dem Vegetationspunkt; bei allen anderen umhüllte sie ihn vollständig. Diese Probe wurde an einem anderen Material, das aus den bayerischen Alpen stammte und im hiesigen Institut weiterkultiviert worden war, im Herbst wiederholt. Es wurden diesmal die Spitzen von 10 Langwurzeln mit 10 solchen von kurzen Nebenwurzeln verglichen. Von den letzteren trat bei sechs die Kutisierung erst kurz hinter dem Vegetationspunkt auf, während sie bei den vier übrigen sowie bei den 10 Langwurzeln den ganzen Vegetationspunkt umhüllte. Ich möchte annehmen, daß sich die 6 Nebenwurzeln noch in lebhaftem Wachstum befanden, während bei den anderen doch schon ein Wachstumsstillstand eingetreten war — wenn auch äußerlich nicht erkennbar. Diesem Problem konnte jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit leider nicht weiter nachgegangen werden.

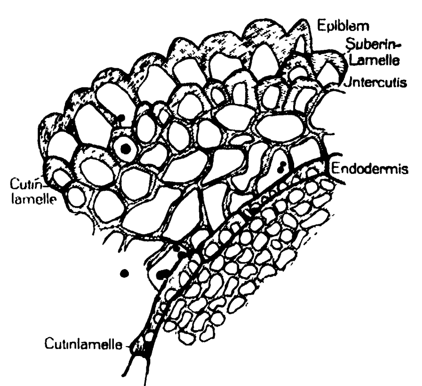


Abb. 2. Querschnitt durch eine ältere Wurzel von Gentiana Clusii. Die Suberin- und Fettbestandteile treten bei Sudanfärbung nach Vorbehandlung mit Javellscher Lauge klar hervor.

An die Interkutis schließt sich nach innen ein 3—4schichtiges primäres Rindenparenchym an; es stellt die pilzführende Schicht dar. Die Zellen sind weitlumig und rundlich im Querschnitt, gestreckt in der Längsrichtung der Wurzel. Die dünnen Wände bestehen aus Zellulose. Charakteristisch für diese Schicht sind die großen Interzellularen.

Den Abschluß des Rindenparenchyms nach innen bildet die Endodermis, deren Zellen in jugendlichem Stadium auf dem Querschnitt stark nach außen gewölbt erscheinen; in Richtung der Achse dagegen sind sie langgestreckt. Später, wenn das sekundäre Dickenwachstum beginnt, werden die Endodermiszellen stark tangential gedehnt. Zugleich werden in den Zellen neue Radialwände angelegt, 5—7 pro Zelle, welche auch im Alter nicht verkorken. Auf diese merkwürdige Endodermisbildung ist bereits mehrfach in der Literatur hingewiesen worden (Abb. 2).

A. Meyer und Tschirch (33, Taf. 72, Abb. einer ausgewachsenen Endodermiszelle) fanden sie bei Gentiana lutea und Perrot (21) bei einer Reihe von Enzian-Arten.

Die Verkorkung der Endodermis erfolgt unregelmäßig. Bei einigen Zellen tritt sie bereits dicht hinter dem Vegetationspunkt auf. An einem Querschnitt, 2 mm hinter dem Vegetationspunkt, kann man beobachten

daß 4 von 12 Zellen schon verkorkt sind und auch bereits die schmale, in tangentialer Richtung gestreckte Form der ausgebildeten Endodermiszelle angenommen haben. Die übrigen Zellen sind noch unverkorkt, später nach außen gewölbt und fungieren als Durchlaßzellen. Später werden auch sie gedehnt und verkorken (Abb. 3).

Es folgt nach innen der Zentralzylinder, der di- oder triarch gebaut ist. Das Xylem besteht aus Schrauben- und Netzschraubengefäßen; Tüpfelgefäße wurden nie beobachtet. Der Siebteil ist in jungen Wurzeln oft schwer zu erkennen. Der Perizykel ist einschichtig. Die radiale Anordnung der Elemente konnte auch in jüngsten Teilen nie genau beobachtet werden, was bei dem geringen Durchmesser des ganzen Zentralzylinders und den — schon in diesem Zustand relativ starken Gefäßen — nicht verwunderlich erscheint. Sehr früh werden die Sieb-Elemente von dem, allerdings meist undeutlichen Kambium, nach außen gedrängt und ebenso wie die Holzelemente stark vermehrt. Diese etwas außergewöhnliche Entwicklung scheint auch Holm bei Obolaria virginica aufgefallen zu sein, er schreibt: „The interior tissues, from the bark to the hadrome, undergo an increase so sudden and irregular that the position of the various elements is changed and an abnormal development of cambial tissue takes place."

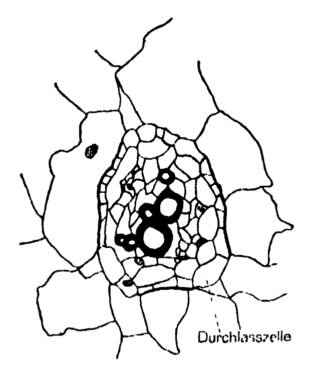


Abb. 3. Querschnitt durch eine junge Wurzel von Gentiana pneumonanthe.

Das Xylem enthält auch im Alter noch reichlich Holzparenchym, das dicht mit Fetttröpfchen gefüllt ist, deutliche Markstrahlen sind nicht erkennbar. Ein zentrales Mark fehlt ebenfalls in den Wurzeln von Gentiana Clusii. Auch in dem Pericykel älterer Wurzeln findet sich reichlich Fett. Die Wände sind hier stark verdickt — jedoch häufig durch Tüpfel unterbrochen, so daß das Gewebe einen sklerenchymatischen Charakter erhält. Stärke fehlt den Enzianwurzeln vollkommen.

Die primäre Rinde bleibt häufig sehr lange erhalten. Noch bei 1 mm dicken Wurzeln konnte sie — wenn auch stark gedehnt und innerlich zerrissen — nachgewiesen werden. Zuweilen wird sie aber auch frühzeitiger abgestoßen; dann übernimmt die Endodermis den Abschluß nach außen. Dank ihrer starken Dehnbarkeit kann sie diese Funktion auch an den ältesten Wurzeln noch beibehalten.

Das Epiblem bleibt meistens so lange erhalten wie die gesamte primäre Rinde. Diese Erscheinung mag mit dem Mangel an Wurzelhaaren in Zusammenhang stehen.

Das Rhizom von Gentiana Clusii verrät durch seinen anatomischen Bau sogleich seine Zugehörigkeit zur Sproßachse. Die Gefäßbündel sind im jungen Rhizom bikollateral. Aus dem innenliegenden Siebteil wird nach erfolgtem Dickenwachstum das häufig in der Literatur erwähnte interxyläre Phloem. Nach A. Meyer (19b, S. 502) und Tschirch-Oesterle (33, S. 313) soll dieses interxyläre Phloem bei Gentiana lutea auch in der Wurzel auftreten. Bei Gentiana Clusii indessen konnte ich es nur im Rhizom auffinden. Von der gleichen Beobachtung berichten Scott und Brebner (30) in ihrer Spezialuntersuchung über interxyläres Phloem.

Nachdem wir uns soweit über die Anatomie der Wurzel und des Rhizoms von Gentiana Clusii informiert haben, sollen kurz einige Angaben über die angewandte Methodik eingeschaltet werden.

Methodisches.

Die Infektion ist äußerlich den Wurzeln kaum anzumerken. Nur hier und da finden sich kurze Hyphenstücke auf den Wurzeln, die auf eine Infektion hindeuten könnten. Erst bei einiger Übung läßt es sich unter dem Mikroskop feststellen, daß die infizierten Stellen weniger durchsichtig, daher oft etwas dunkler erscheinen als die nichtinfizierten Teile der Wurzel.

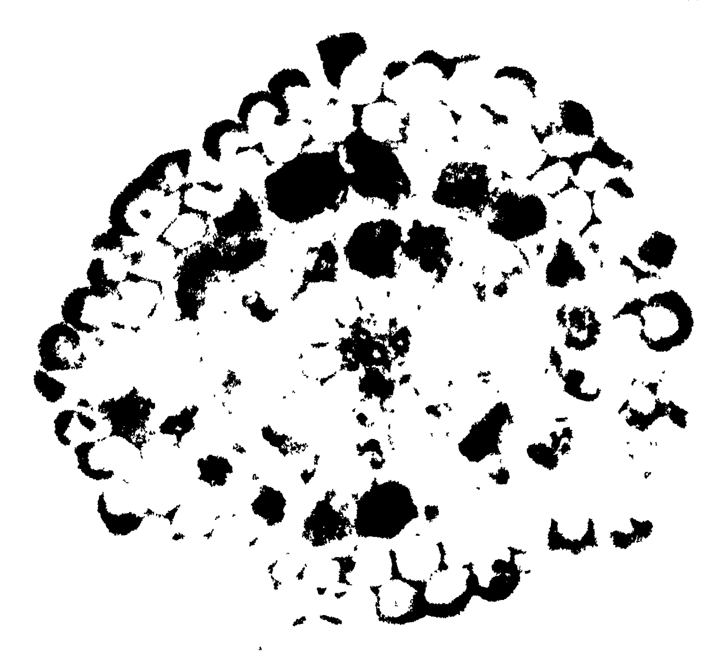


Abb. 4. Querschnitt durch eine infizierte Wurzel von Gentiana Clusii.

Versuche, die Wurzeln mit Karbol-Xylol oder Chloralhydrat aufzuhellen, so wie es Rayner bei den Ericaceen gelungen ist, waren bei Enzian aus dem Grunde erfolglos, weil bei Enzian die pilzführende Schicht tiefer liegt. Bei ersteren stellt das Epiblem selbst die pilzführende Schicht dar, während die Enzian-Arten in den Rindenparenchymzellen Pilzhyphen führen. Da bei dem geringen Durchmesser der infizierten Wurzeln genügend dünne Handschnitte nicht erzielt werden konnten, wurden kurze Wurzelstücke unter dem Binokularmikroskop mit fein ausgezogenen Glasnadeln zerrissen und dann unter dem Mikroskop näher untersucht. Die meisten der weiter unten aufgeführten mikrochemischen Reaktionen erfolgten an derartigen Präparaten.

Außerdem wurden auch gefärbte Dauerpräparate hergestellt. Das Juelsche und Carnoysche Fixiergemisch bewährten sich nicht gut, es traten häufig Schrumpfungen auf. Auch das Flemmingsche Gemisch wurde nur selten benutzt, da die Enzianwurzeln große Fettmengen enthalten,

die durch die Osmiumsäure intensiv geschwärzt werden. Es wäre daher ein sorgfältiges Bleichen der Präparate notwendig gewesen. Am häufigsten wurde das Bouin-Allensche Fixiergemisch benutzt und guter Erfolg damit erzielt. Außerdem hat sich die langsame Fixierung nach Regaud (10 cmm Formol und 40 ccm 3proz. Kaliumbichromat während 12 Tagen, täglich erneuert und nachfolgende 6tägige Behandlung mit 3proz. Kaliumbichromat, täglich erneuert), die Gustav Friedrichs für seine Chondriosomen-Untersuchungen benutzt hat, ausgezeichnet bewährt. An Färbungen wurde die Fuchsin-Jodgrünfärbung (27, S. 121) und die Baumwollblau-Safraninfärbung (15, S. 233) bevorzugt. Auch die Färbung nach Pianese hatte guten Erfolg; daneben wurde zuweilen auch die Heidenhainsche Eisen-Hämatoxylin-Methode benutzt.

Verbreitung des Pilzes in der Wurzel.

Die Infektion erfolgt durch wenige, außen an der Wurzel entlangkriechende Hyphen, die ins Innere der Wurzel eintreten oder einen Seitenast hineinschicken. Stets handelte es sich um Hyphen mit Querwänden, also um Eumyceten. Liegen die Infektionsstellen sehr dicht, so stellt die primäre Rinde der Wurzel einen einzigen Pilzmantel dar, der bis dicht an den Vegetationspunkt heranreicht. Dann ist fast jede Zelle des Rindenparenchyms mit Pilzhyphen erfüllt. Meistens jedoch liegen die Infektionsstellen weiter auseinander. Es lassen sich dann im Rindenparenchym nur einzelne, voneinander getrennte Pilzzentren erkennen. Ein Übersichtsbild gibt der Wurzelquerschnitt (Abb. 4) und der Längsschnitt (Abb. 5).

Abb. 5.
Längsschnitt durch eine infizierte Wurzel von Gentiana Clusii.

Ich möchte an dieser Stelle hervorheben, daß bei Enzianwurzeln nur sehr wenig Außenhyphen zu sehen sind. Bei Vinca minor dagegen, die vergleichsweise beobachtet wurde, sind die Außenhyphen sehr zahlreich vertreten. Sogenannte Emissionshyphen, die aus der Wurzel wieder in den Boden führen, konnten bei Enzian nie beobachtet werden. Burgeff führt bei Neottia nidus avis in seinem 1909 erschienenen Buch auch das Fehlen von Emissionshyphen an. In seinem 1932 erschienenen Werk bemerkt er jedoch, daß er inzwischen im Winter und Frühjahr reichlich Emissionshyphen an der Basis junger Wurzeln gesehen habe. Ich habe indessen auch im Winter bei Enzian vergebens danach gesucht.

Da auch bei allen anderen Dikotylen, die in bezug auf ihre endotrophe Mykorrhiza untersucht wurden — von Gallaud, Janse, Demeter u. a. — nie dergleichen beobachtet wurde, möchte ich annehmen, daß die Ausbildung von Emissionshyphen eine Eigentümlichkeit der Monokotylen darstellt. Bei den Dikotylen, die ihre primäre Rinde abwerfen, besteht für

die noch gesunden Hyphen auf diese Weise die Möglichkeit, wieder in den Erdboden zu gelangen.

Die Vorgänge in der Wirtszelle.

In Mikrotomschnitten lassen sich stets nur ganz kurze Bruchstücke von Infektionshyphen, die aus dem Boden kommen, nachweisen. An der Außenwand des Epiblems bildet die Hyphe ein 7—11 μ dickes Appressorium und wächst sofort mit mehr oder minder starken Anschwellungen auf eine Durchlaßzelle der Interkutis zu. Ohne starke Einschnürung durchbricht sie hier die Wände, um sofort in das lockere Rindenparenchym zu gelangen (Abb. 6).

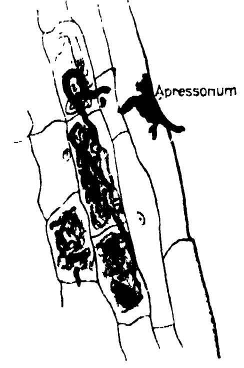


Abb. 6. Langsschnitt durch eine Wurzel von Gentiana Clusii. Infektionshyphe mit Appressorium im Epiblem.

In seltenen Fällen können die Hyphen auch die Langzellen der Interkutis durchbrechen. Die Suberinlamelle scheint ihnen da kein unüberwindliches Hindernis zu bereiten. In der Interkutis selbst kommt es nie zu einer Ausdehnung des Pilzmyzels.

Die Hyphen, deren normaler Durchmesser zwischen 3,5 und 4,5 μ liegt, zeigen in den ersten Rindenzellen, die sie erreichen, oft unregelmäßige, bis zu 9,5 μ dicke Anschwellungen. Außerdem färben sich die Hyphen in Nähe der Infektionsstelle — insbesondere mit Fuchsin — zumeist intensiver als das übrige Innenmyzel. Das Fuchsin in der Fuchsin-Jodgrünfärbung hat die Eigentümlichkeit, die Pilzmembranen am stärksten zu tingieren; sie färben sich weinrot. Baumwollblau und das Säurefuchsin der Pianesefärbung hingegen tingieren stärker die plasmatischen Bestandteile der Wirtszelle sowie die der Pilzhyphen. Je weiter sich die Pilzhyphen indessen von der Infektionszelle entfernen, desto mehr schwindet die starke Färbbarkeit und Hypertrophie. Die Hyphen durchwachsen regellos die Zellen des Rindenparenchyms, indem sie in jeder Zelle einige Schlingen bilden. In den meisten Zellen entstehen auf diese Weise ansehnliche Hyphenknäuel. Bei diesem intrazellularen Wachstum verzweigen sich häufig die Hyphen; der Hyphendurchmesser bleibt dabei gewöhnlich derselbe. Abgesehen von den Verzweigungen lassen sich viel kleine Ausstülpungen und Anschwellungen an den Hyphen beobachten, die man vielleicht als Tendenz zur Anastomosenbildung deuten darf (Abb. 7). Zur echten Anastomosenbildung scheint es jedoch nie zu kommen. Eine feine Verästelung der Hyphen in den Wirtszellen, also eine „Arbuskelbildung", wie sie Gallaud (5 a) für fast alle endotrophen Mykorrhizabildner außer den Orchideen beschreibt, wurde bei Enzian nie festgestellt.



Abb. 7. Infizierte Zelle aus einem Längsschnitt durch eine junge Wurzel von Gentiana Clusii. Viel kleine Ausstulpungen an den Hyphen.

Als erstes Symptom der eintretenden Hyphenverdauung in der Zelle läßt sich eine Vermehrung und Veränderung des Plasmas in der Wirtszelle beobachten. In dem Plasma, das in den uninfizierten

Zellen bei guter Plasmafärbung nur in Nähe des Kernes und als feiner Wandbelag sichtbar ist, treten feine Körnchen auf. Leider ist dieses Anfangsstadium von den meisten Autoren vernachlässigt, vielleicht auch häufig anders gedeutet worden. In den beiden unteren infizierten Zellen auf Abbildung 8 und der schräg rechts darüberliegenden läßt sich die beginnende Plasmavermehrung einigermaßen beobachten (Abb. 8).

Demeter (3, S. 415), der die endotrophe Mykorrhiza von Vinca minor untersucht, die jedoch zum „Arumtyp" Gallauds gehört — mit „Arbuskeln" und daraus hervorgehenden „Sporangiolen" —, schreibt (3, S. 415): „Zuweilen tritt die Bildung wolkenartiger Körnchenmassen schon viel früher auf, lange bevor sich das Arbuskel in der ganzen Zelle ausbreiten konnte." Sollte es sich nicht vielleicht auch hier um eine Veränderung und Vermehrung des Wirtsplasmas handeln? Demeter deutet die wolkenartigen Körnchenmassen als Eiweißausfällungen, die durch Mischung des Hypheninhaltes — nach dem Platzen der Arbuskeln — mit dem Wirtsplasma auftreten. Meine Vermutung wird weiter gestützt durch Fig. 5 auf Tafel VII der Demeterschen Arbeit, wo „wolkenartige Körnchenmassen" in einer Zelle liegen, die ganz intakte Hyphen und kein Arbuskel zu enthalten scheint.

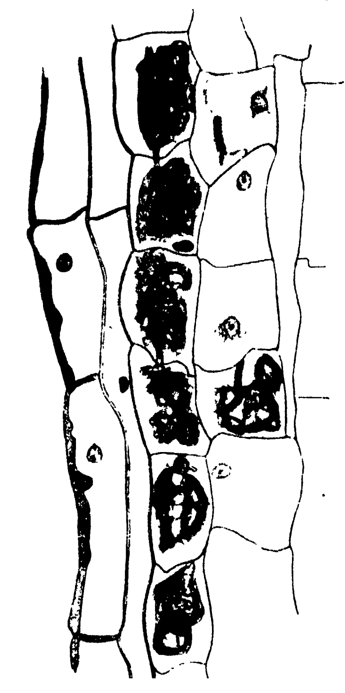


Abb. 8. Längsschnitt durch eine stark infizierte Wurzel von Gentiana Clusii. Beginnende Plasmavermehrung in den untenliegenden Zellen. Körnchenbildung in den Hyphen.

Dagegen wird bei Kusano (14) die eintretende Veränderung in den Verdauungszellen von Gastrodia elata auf Seite 21 folgendermaßen beschrieben: „The infection of the hyphae induces a dense granular appearance of the cytoplasm formerly reticulated, and at the same time a further increase of its amount. The hyphae are then inbedded in the cytoplasm . . ." Und weiter auf Seite 30: „Probably the apparent increase of the cytoplasm at previous stages has been due mainly to the accumulation of elaborated substances wich are distinguished from the somewhat fibrous true cytoplasm by their being granular."

Diese Beschreibung stimmt völlig mit meinen Beobachtungen bei Enzian überein. Das Wirtsplasma wird ständig dichter und umhüllt jede eingedrungene Hyphe. Schließlich wird der ganze Zellinhalt zu einem mehr oder weniger homogenen Klumpen, der den gesamten Zellraum einnimmt. Bei Fuchsin-Jodgrünfärbung sind indessen die einzelnen Hyphen, dank dem klaren Hervortreten der Membranen, noch deutlich in dem Klumpen zu erkennen.

Über den Verbleib des Zellsaftes, der den größten Raum der uninfizierten Zelle einnimmt, läßt sich leider so gut wie nichts aussagen. Versuche, Zellen mit Pilzklumpen zu plasmolysieren, hatten keinen Erfolg. Nur schwach infizierte Zellen ließen sich wenigstens teilweise plasmolysieren,

in der Art, daß der Protoplast sich nicht einheitlich zusammenzog, sondern daß sich 2 oder 3 Teilkugeln bei dem Zusammenziehen bildeten. Die Hyphen blieben dann z. T. außerhalb des Wirtsprotoplasten liegen. Wahrscheinlich saugen die Hyphen bei starker Ausbreitung in der Zelle den Zellsaft auf.

Hand in Hand mit der Plasmavermehrung in der Wirtszelle geht eine auffallende Veränderung des Hyphen-Inhaltes vor sich. Die normalen, noch unbeschädigten Hyphen zeigen eine feinkörnige Struktur. Die 2,7—3,0 μ großen Zellkerne sind deutlich zu erkennen. Unter dem Einfluß des Wirtsplasmas treten jedoch bald größere Aggregate in den Hyphen auf, die sich mit Hämatoxylin schwarz färben (siehe Abb. 8 in der untersten infizierten Zelle); oft sind die einzelnen Aggregate durch fadenartige Gebilde miteinander verbunden. Wahrscheinlich stellen diese Körper koaguliertes Eiweiß dar. In den Klumpenstadien werden diese Aggregate seltener. Es läßt sich vermuten, daß der Protoplast der Wirtszelle proteolytische Enzyme bilden kann, die imstande sind, das Eiweiß aus den Hyphen herauszulösen. Jedenfalls bleiben die leeren Membranen im Klumpen zurück.

Der Zellkern der Wirtszelle macht ebenfalls eine Veränderung durch, die sich nur im Zusammenhang mit der Infektion deuten läßt. In nichtinfizierten Rindenzellen beträgt seine Größe durchschnittlich 7,9 × 6,4 μ. (Die angegebenen Durchschnittswerte sind aus je 12 Messungen an ein und demselben Präparat errechnet.) Es fand sich allerdings auch hier und da ein Kern, der eine Größe von 9 × 10 oder 8 × 9 μ aufwies. Diese anormal großen Kerne finden sich jedoch nur in anormal großen Zellen, die ab und zu im normalen Rindengewebe auftreten. In einem Längsschnitt der Wurzel sind die Maße der normalen Rindenzellen 70 × 18 μ, die der anormal großen 93 × 20 μ. Mit der Pilzinfektion hat diese Erscheinung nichts zu tun. Da diese anormal großen Zellen recht selten sind, wurden sie bei der Durchschnittsberechnung der Kerngrößen außer acht gelassen. Wird nun eine Rindenzelle von einer Hyphe infiziert, so tritt zugleich mit der Plasmavermehrung eine deutliche Vergrößerung des Zellkerns ein. Die Durchschnittsgröße wächst auf 9,9 × 8,2 μ an. In den folgenden Stadien der Klumpenbildung nimmt die Kerngröße bereits wieder etwas ab, sie beträgt 9,9 × 7,7 μ.

Eine Vergrößerung des Nucleolus, wie sie Demeter (3, S. 424) bei Vinca beschreibt, konnte ich an meinem Enzianmaterial nicht beobachten. Demeter stellte ein Anwachsen des Nucleolus auf mehr als das Doppelte des ursprünglichen Durchmessers fest. Die Vergrößerung des Nucleolus geht aber nicht etwa der Kernvergrößerung parallel, sondern sie liegt zeitlich später. In den Zellen mit Arbuskeln und Plasmoptyse erreicht der Zellkern sein größtes Ausmaß; im Falle unseres Enzians würde das etwa den Stadien mit Plasmaveränderung entsprechen. Das größte Kernvolumen findet sich also bei den verschiedenen Versuchspflanzen in der gleichen Entwicklungsphase. Der Nucleolus ist bei Vinca in den Zellen mit jungen Sporangiolen am größten, das würde dem Stadium der Klumpenbildung bei Enzian entsprechen. Da Demeter den Nucleolus als „Sammelstelle für Stoffwechselprodukte" deutet, faßt er das Maximum im Sporangiolenstadium als einen Ausdruck für das Maximum der Beanspruchung des Nucleolus bei seiner Funktion als „Reservestoffbehälter" bei der Pilzverdauung auf. Bestände diese Hypothese Demeters zu recht, so müßte sich dieses Anwachsen des Nucleolus wohl bei jeder Pilzverdauung in der Zelle beobachten lassen, ganz gleichgültig, um welches Pflanzenmaterial es sich handelt. Bei dem

mir vorliegenden Enzianmaterial betrug der Durchmesser des Nucleolus ziemlich konstant 2 μ.

Von einer Vermehrung des Chromatingehaltes, wie sie bei Orchideen von vielen Autoren festgestellt worden ist, konnte ich ebenfalls nichts beobachten. Es hat sogar den Anschein, als ob die vergrößerten Kerne relativ weniger Chromatin enthielten als die normalen. Das würde darauf hindeuten, daß das Chromatin konstant bliebe, sich nur bei dem vergrößerten Kern auf eine vergrößerte Kernmasse verteilen müßte.

In nichtinfizierten Rindenzellen ist der Zellkern gewöhnlich im Längsschnitt oval, seltener rundlich und ist gewöhnlich in der Mitte der Zelle angeordnet. Später liegt er meistens in dem Klumpen, nur selten an seinem Rande. Die Form des Kernes ist in dieser Phase häufig verändert; er ist meist schmäler und länger, oft etwas mehr eckig und zeigt Ausstülpungen und Einbuchtungen.

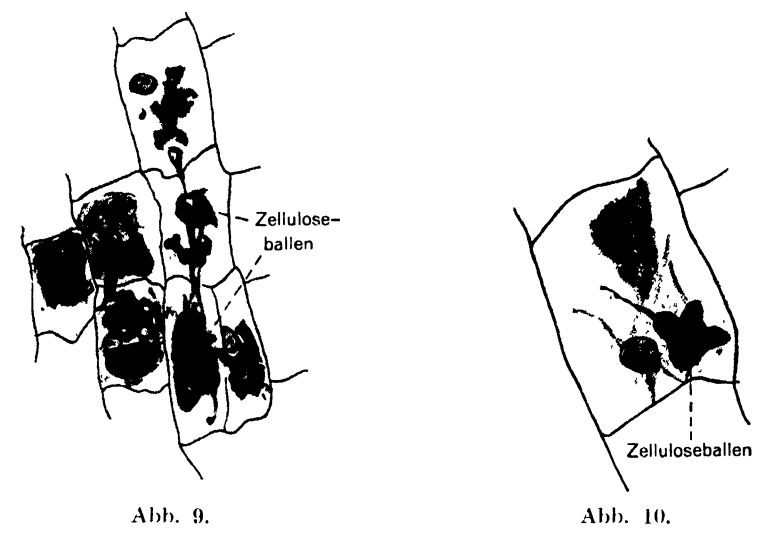


Abb. 9. Längsschnitt durch eine stark infizierte Wurzel von Gentiana Clusii. Beginnende Zelluloseabscheidung im Pilzklumpen.

Abb. 10. Endstadium der „Verdauung“: Der Zellkern liegt außerhalb der mit Zellulose umhüllten Pilzreste. Aus einem Wurzel-Längsschnitt durch G. Clusii.

Kommen wir nun nach der Beobachtung des Zellkernes zu der oben beschriebenen Klumpenbildung in der Zelle zurück. Dieses Stadium stellt meistens noch nicht die Endphase der Geschehnisse in der Wirtszelle dar. Dies kann jedoch eintreten, wenn die Zelle erst kurz vor dem Absterben der primären Rinde infiziert wurde, die Zelle also während ihrer Verdauungstätigkeit vom Tod überrascht wird.

Die weitere, normale Entwicklung in der Zelle läßt sich am besten in den mit Fuchsin-Jodgrün gefärbten Präparaten beobachten. Zunächst sind die Klumpen hell weinrot gefärbt; die Umrisse der Pilzmembranen lassen sich deutlich erkennen. Allmählich werden sie schwächer, der gesamte Klumpen dagegen etwas dunkler. Jetzt sieht man häufig violett gefärbte Gebilde auftreten, die der Farbe der Zellwände auffallend gleichen. Der Klumpen wird unregelmäßiger, kleiner, die violetten Bestandteile nehmen zu (Abb. 9).

Schließlich bleibt ein weit kleinerer violett gefärbter Klumpen in der Zelle zurück, von ungleicher Form und Schattierung, der häufig an mehreren kollabierten Hyphen, die jetzt auch violett erscheinen, in der Zelle aufgehängt ist. Der Zellkern liegt in diesem Endstadium bereits außerhalb des Klumpens (Abb. 10).

Nebenbei soll schon hier bemerkt werden, daß diese Klumpen der Form nach sehr stark an die von anderen Mykorrhizaformen her bekannten „Sporangiolen" erinnern, die dort das Endstadium der „Arbuskeln" darstellen.

Die Erscheinung, daß diese violetten, oft schleierartigen Gebilde die gleiche Farbe zeigen wie die Zellwände der Wirtszellen, legte die Vermutung nahe, daß es sich in beiden Fällen um die gleiche chemische Substanz (etwa Zellulose) handeln könnte. Von der Orchideenmykorrhiza wissen wir ebenfalls, daß die ausgesogenen Pilzklumpen mit Zellulose umhüllt werden.

Daher wurde eine Chlorzink-Jod-Probe ausgeführt, um eventuell Zellulose nachweisen zu können. Von Paraffin befreite Mikrotomschnitte wurden über 100 und 96proz. Alkohol in Wasser übergeführt und darauf mit Chlorzink-Jod behandelt[1]). Die Zellwände der Wirtszellen färbten sich lila; in den großen Klumpen zeigten sich lilafarbene schleierartige Gebilde, und die kleineren, unregelmäßigen Klumpen waren fast ganz lila gefärbt. Die großen Klumpen erschienen in der Hauptsache deutlich gelb, die Zellkerne ebenfalls. Damit war klar erwiesen, daß auch hier, wie bei den Orchideen, der Protoplast der Wirtszelle die Reste der Pilzmembranen mit Zellulose umhüllt und aus dem lebenden Organismus der Zelle ausscheidet.

Um über die chemische Natur der „Klumpen" Aufklärung zu erhalten, wurden einige Eiweißreaktionen ausgeführt. Die Biuret- und Millonsche Probe verliefen völlig negativ [Brauner (1, S. 71)]. Ebenso brachte die Hartigsche, von Zacharias modifizierte Reaktion mit Berliner Blau [Molisch (20, S. 281)], die namentlich für die mikrochemische Analyse der Eiweißstoffe von Bedeutung sein soll, keinen Erfolg. Dies mag auf die saure Reaktion des Zellsaftes zurückzuführen sein, der die Berlinerblaubildung verhindert. Am günstigsten verlief schließlich die Probe mit Pikrinsäure [Strasburger (32, S. 139)]. Die Klumpen färbten sich intensiv gelb, die Zellkerne etwas heller gelb.

Ein Vorkommen von Glykogen ließ sich weder in den gesunden Hyphen noch in den späteren Verdauungsstadien nachweisen. Alkoholmaterial und lebendes Material wurden der A. Meyerschen Glykogen-Jodprobe (19 c, S. 263) mit und ohne Natrium-Azetatzusatz unterworfen. Aber nie trat die geringste Braunfärbung auf.

Da sich in lebendem Material in den Klumpenstadien viel stark lichtbrechende Tröpfchen zeigten, lag die Vermutung nahe, daß es sich hier um Fett handele. Auch die starke Schwärzung der Präparate nach der Fixierung im Flemmingschen Gemisch ließ auf das Vorhandensein von Fett schließen. Den eindeutigen Nachweis lieferte aber erst die Sudanreaktion. Wurzelstückchen, die eine Pilzinfektion erkennen ließen, wurden für mehrere Stunden in Javellsche Lauge gebracht, danach gut in 1proz. HCl ausgewaschen und sodann über Nacht in eine alkoholische Sudanlösung

---

[1]) Man tut gut, keine zu großen Mengen des Reagens zu verwenden und bald ein Deckglas aufzulegen, da das Chlorzink-Jod das zum Aufkleben der Schnitte benutzte Albuminglyzerin verändert, so daß die Schnitte nicht mehr haften. Das Material war mit Juelschem Gemisch fixiert worden.

überführt. Der Erfolg war ausgezeichnet. Sämtliche in den Rindenzellen liegenden Hyphenschlingen wiesen eine intensive Rotfärbung auf. Nebenbei lagen noch sehr viele größere oder kleinere rote Tropfen in den Zellen, die zweifellos aus dem Hypheninhalt stammten. Die großen Tropfen scheinen durch das Zusammenfließen von mehreren kleinen zustande zu kommen (Abb. 11).

Später (Anfang Februar) wurde ein Material, das längere Zeit dem Frost ausgesetzt war, der gleichen Probe unterworfen. Hier zeigten sich in den Zellen der primären Rinde nur noch ganz geringe Fettmengen in feiner Verteilung. Das Fett war inzwischen wohl in die Speicherorgane der Pflanze — in die Rhizome und älteren Wurzeln — überführt worden, die stets beträchtliche Fettmengen führen.

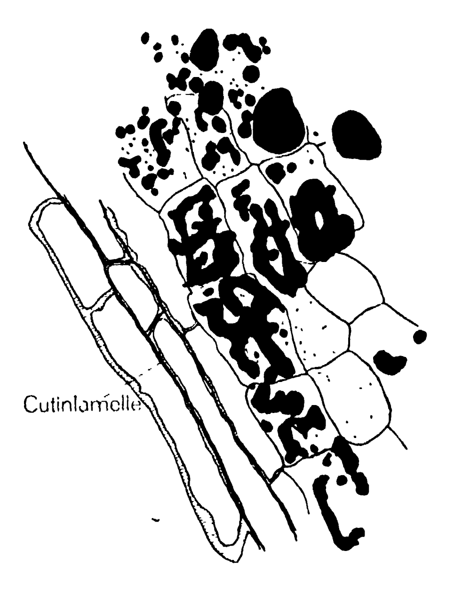


Abb. 11. Längsschnitt durch eine stark infizierte Wurzel von G. Clusii. Die großen, bei der „Verdauung" auftretenden Fettmengen durch Sudanfärbung sichtbar gemacht.

Es zeigte sich indessen, daß auch die Wurzeln völlig pilzfreier Pflanzen — es handelte sich um selbstaufgezogene, sterile Sämlinge von Gentiana pneumonanthe — in den Wurzeln und im Rhizom Fett führen; aber nur geringe Mengen in feiner Verteilung.

An gleichaltrigen infizierten Sämlingen dagegen fallen die Infektionsstellen sofort durch die dort angehäuften starken Fettmengen auf.

Ob dieses Fett jedoch aus den aus dem Boden kommenden Hyphen stammt oder durch Umformung der bei der Photosynthese gebildeten Kohlehydrate der Wirtspflanze gewonnen wird und schließlich bei der Hyphenverdauung wieder in das Wirtsplasma gelangt, das entzieht sich vorläufig unserer Kenntnis.

Mc. Lennan (17) berichtet in seiner Arbeit über Lolium temulentum von einer beachtenswerten Anreicherung der Wirtspflanze an Fett durch den endotrophen Mykorrhizapilz. Ob dieses Fett indessen nicht ursprünglich aus den Kohlehydraten der Wirtspflanze stammt, darüber gibt Mc. Lennan keine Auskunft. Bei den Ericaceen findet ebenfalls ein Austausch fettartiger Substanzen in den Wirtszellen statt (26, S. 213). Bemerkenswert erscheint mir, daß ein solcher „Fettaustausch" bisher nur bei Pflanzen beobachtet wurde, die keine Stärke in ihren Wurzeln führen: bei Gentiana und einer Reihe von Gramineen und Ericaceen.

Mehr als diese Andeutungen kann ich leider über die gesamte Kohlenstoffbilanz der mykotrophen, chlorophyllführenden Enziane nicht aussagen. Es wäre dringend notwendig, Versuche über die Photosynthese dieser Pflanzen in die Untersuchungen mit einzubeziehen. Denn hier harren gewiß sehr interessante physiologische Fragen einer Lösung, die imstande wäre, das noch immer dunkle Problem der Nährstoffbilanz mykotropher Pflanzen

etwas aufzuhellen. Über einen eventuell stattfindenden Austausch stickstoffhaltigen Materials zwischen Wirtspflanze und Pilz kann für Enzian nach meinen bisherigen Untersuchungen noch gar nichts ausgesagt werden.

Das bisher geschilderte Bild der endotrophen Mykorrhiza von Gentiana Clusii ist aus einem Material gewonnen, das in den Monaten Mai bis September fixiert worden ist. Ein etwas abweichendes Bild ergibt ein im November fixiertes Material. Hier konnten häufig vesikelartige Anschwellungen der Hyphen in den Zellen beobachtet werden (Abb. 12). Die Vesikel können einen Durchmesser von 30 μ erreichen; ihr Inhalt ist feinkörnig und wird später vakuolig. Häufig werden sie in den Verdauungsklumpen mit einbezogen, wo dann die leeren Membranen zurückbleiben. Ferner traten in demselben Material auch häufiger interzellulare Hyphen auf als in dem Sommermaterial. Die Dicke dieser Hyphen ist recht ungleich; neben feinen von 2 μ Durchmesser treten solche von bis 4 μ auf. Trotzdem handelt es sich nicht um Hyphen, die etwa zwei verschiedenen Pilzen angehören, denn es wurden verschieden große Durchmesser am gleichen Hyphenstück gemessen.

Es mag sein, daß diese Abweichungen im Spätherbstmaterial — die Vesikel und die interzellularen Hyphen — darauf hindeuten, daß der Pilz aus der absterbenden primären Rinde ins Freie zu gelangen sucht, um da vorübergehend saprophytisch weiter zu existieren.

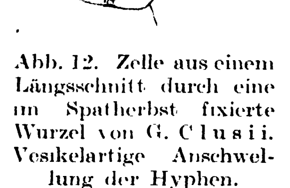


Abb. 12. Zelle aus einem Längsschnitt durch eine im Spätherbst fixierte Wurzel von G. Clusii. Vesikelartige Anschwellung der Hyphen.

Diskussion der zytologischen Ergebnisse.

Wir wollen nun das Bild, das wir von der Mykorrhiza in der Gattung Gentiana gewonnen haben, vergleichen mit der eingangs gegebenen Beschreibung der saprophytischen Gentianaceen nach Janse, Figdor und Johow (10, 4 u. 11).

Eine auffallende Abweichung bringt Janse, der von „Sporangiolen" berichtet. Von Gallaud und Demeter wissen wir indessen heute, daß Sporangiolen stets als Folgestadien von Arbuskeln aufzufassen sind. Arbuskeln jedoch wurden bisher bei keiner Gentianacee beobachtet; es sei denn, daß sie übersehen worden wären. Das wäre immerhin möglich, denn das Arbuskelstadium soll nach Gallaud oft nur sehr kurze Zeit andauern, um rasch — z. B. auch infolge mangelhafter Fixierung — in das Sporangiolenstadium überzugehen. Aber diese Erklärung brauchen wir wohl gar nicht erst heranzuziehen, da Janse (10) sich selbst in Widersprüche verwickelt. Auf Seite 181 lesen wir: „Les seules plantes qui ne possèdent pas de sporangioles sont les sept plantes citées page 158 et les Orchidées." Auf Seite 158 aber steht: „Ce n'est que dans quelques-unes des plantes étudiées que les sporangioles me paraissent rester intacts. Du moins je n'ai pas observé de masses granuleuses chez les plantes suivantes: Ophioderma, Thismia, Gonyanthes, Sciaphila, Cotylanthera, Argostema, Nauclea."

Lassen wir also die etwas unklare Beschreibung Janses beiseite und setzen uns nur mit der zuverlässigsten von W. Figdor (4) auseinander. Hier scheint die Übereinstimmung mit meinen Ergebnissen ziemlich offensichtlich.. Es fragt sich allerdings, ob man sich überhaupt nach ungefärbtem

Alkoholmaterial ein Bild von den zytologischen Vorgängen machen kann; denn Figdor und die anderen älteren Forscher vor 1900, die die Mykorrhiza saprophytischer Gentianaceen in Buitenzorg untersuchten, arbeiteten meines Wissens nur mit Alkoholmaterial.

Bei Cotylanthera sowie in den verschiedenen Arten in der Gattung Gentiana handelt es sich um Hyphenknäuel in den Zellen. Anschwellungen der Hyphenenden wurden jedoch bei keinem Enzian angetroffen; es mag sein, daß die Tendenz zur Vesikelbildung bei Cotylanthera stärker ist. Dies kann allerdings auch mit temporären Ernährungsbedingungen des Pilzes in Zusammenhang stehen. Ein experimenteller Beweis hierfür ist jedoch bis heute noch nicht zu erbringen, da wir über die Stoffwechselvorgänge in den Mykorrhizen bisher noch kaum unterrichtet sind.

Bemerkenswert scheint mir weiter die Tatsache, daß Cotylanthera einen stärkeartigen Reservestoff in ihren Wurzeln führt, nämlich Amylodextrin. Dieses scheint der Pilz für sich verwerten zu können, da es in den infizierten Zellen nicht mehr angetroffen wird. Es ist dies ein analoger Vorgang zu dem Verschwinden der Stärke bei Orchideen, Vinca usw. Andererseits scheint auch hier bei der Verdauung der Hyphenknäuel viel Fett in das Wirtsplasma zu gelangen. Wahrscheinlich stellt aber hier die Fettanreicherung des Wirtes durch den Pilz den primären Vorgang dar, der überhaupt die Bildung von Amylodextrin erst ermöglicht; denn Cotylanthera ist ja bekanntlich eine chlorophyllfreie Pflanze. Ehe indessen nicht ein experimenteller Beweis über diese Beziehungen erbracht ist, wollen wir uns hüten, diesen Vermutungen allzu viel Wert beizumessen.

Im folgenden sei kurz der Versuch gemacht, die Enzianmykorrhiza nach dem zytologischen Befund einer Gruppe von den vielen untersuchten endotrophen Mykorrhizen zuzuordnen. Gallaud hat in seinen „Etudes sur les Mycorhizes endotrophes“ 4 Typen aufgestellt: 1. Arumtyp; 2. Paris-Typ; 3. Lebermoos-Typ; 4. Orchideen-Typ. Nach den auf Tafel II gegebenen Abbildungen von Paris quadrifolia und Parnassia palustris schien uns der Enzian recht gut in diese Gruppe zu passen. Gallaud nennt den Inhalt der infizierten Zellen während der Verdauung jedoch „Arbuscules composées“ und beschreibt an den sekundären Hyphenästen, die den Hyphenknäuel bilden, nochmals feine Hyphenverästelungen („arbuscules“), die später in Sporangiolen übergehen. Leider fehlen gerade hier wirklich gute Abbildungen, die einen genauen Vergleich mit unseren Befunden bei Enzian erlauben würden.

Da es nie gelungen ist, Arbuskeln bei Enzian aufzufinden, mußte doch davon abgesehen werden, die Gentianamykorrhiza diesem Typ zuzuordnen, obwohl sonst alle Merkmale, wie intrazellulares Hyphenwachstum und Hyphenknäuel recht gut übereinstimmen.

Sehen wir also von dieser zweiten Gruppe ab, so bleibt nur die Orchideengruppe übrig, da Typ 1 und 3 deutliche Arbuskeln ausbilden. In der Tat scheint uns die Enzianmykorrhiza — nach dem anatomisch-zytologischen Bild — der Orchideenmykorrhiza unter allen anderen endotrophen Mykorrhizen am nächsten zu stehen.

Gallaud betrachtet die Gliederung in Wirtszellen und Verdauungszellen im Rindenparenchym der Wurzel als wichtiges Merkmal für die Orchideenmykorrhiza. Burgeff hat indessen schon lange nachgewiesen, daß diese Spezialisierung, zumal für die tropischen Orchideen keine notwendige ist.

Neuerdings hat P e y r o n e l (22 a u. b) eine große Anzahl von Pflanzen aus den verschiedensten Familien auf ein Vorkommen von Mykorrhiza geprüft. Auf Grund seiner Untersuchungen hat er die Theorie der „doppelten Infektion" aufgestellt, die besagt, daß viele Pflanzen von Phycomyceten und Eumyceten nebeneinander infiziert würden. Die Phycomyceten sollen den Arbuskeltyp hervorrufen, die Eumyceten — stets aus der Gattung Rhizoctonia — den Knäueltyp. Auch in G e n t i a n a c r u c i a t a hat P e y r o n e l einen Rhizoctoniapilz beobachtet (22 a, S. 27). Eine Nebeninfektion durch einen arbuskel- und vesikelbildenden Phycomyceten hat er meines Wissens bei G e n t i a n a c r u c i a t a nicht gefunden. Seine Theorie stützt sich experimentell in der Hauptsache auf Beobachtungen innerhalb der Familie der Gramineen. Die Allgemeingültigkeit dieser Theorie wird dann aus den Beobachtungen anderer Forscher, die etwa von einer Vesikelbildung neben Hyphenknäueln oder Arbuskeln neben Hyphenknäueln berichten, gefolgert. Da auch in unserem Enzianmaterial im Herbst Vesikeln neben Hyphenknäueln beobachtet wurden, hätten wir es nach P e y r o n e l auch hier mit einer Doppelinfektion zu tun. Diese Annahme scheint mir jedoch verfrüht, da es bis heute noch nicht gelungen ist, den sog. Phycomyceten mit Arbuskeln und Vesikeln aus lebendem Material zu isolieren. Die Vesikeln sollen übrigens die Sporangien des Pilzes darstellen. Es ist ebenfalls bis heute nicht einwandfrei erwiesen, daß ein Eumycet — denn um einen solchen handelt es sich ja bei Enzian — neben Hyphenknäueln nicht zugleich unter gewissen Ernährungsbedingungen Vesikeln bilden könnte. Diese interessante Theorie der Doppelinfektion scheint mir einer gründlichen experimentellen Nachprüfung zu bedürfen.

Versuche zur Isolierung des Wurzelpilzes.

Um Aufschluß über die physiologischen Beziehungen zwischen Pilz und Wirtspflanze zu erhalten — insbesondere über die Frage, ob die Enziansamen zur Keimung den Pilz benötigen — wurden zunächst Versuche unternommen, den Pilz aus der Wurzel zu isolieren. Daneben sollten, wenn möglich, sterile Enziansämlinge herangezogen werden, um eine künstliche Synthese ausführen zu können.

Die Methodik bei der Isolierung des Wurzelpilzes war im wesentlichen dieselbe, die B u r g e f f für die tropischen Orchideen angewandt hat. Da aber die verpilzten Enzianwurzeln viel dünner sind als die der tropischen Orchideen, mußten in manchen Punkten Abänderungen erfolgen. Als Versuchspflanzen dienten mir die in Berlin weiterkultivierten Pflanzen von G e n t i a n a C l u s i i aus den bayerischen Alpen, G e n t i a n a W a l u j e w i aus dem Berliner Botanischen Garten und G e n t i a n a p n e u m o n a n t h e aus dem Spandauer Stadtforst. Zu dem zuerst vorgenommenen Versuch der „Kultur im hängenden Tropfen" wurde nur G e n t i a n a C l u s i i verwendet. Diese Kulturmethode wurde zunächst bevorzugt, da sie eine leichtere Beobachtung der aus den Wirtszellen auswachsenden Hyphen versprach.

Die feinen Nebenwurzeln wurden sorgfältig in fließendem Leitungswasser gewaschen, danach in steriles Leitungswasser übertragen. Ein Teil der Wurzeln wurde zur Kontrolle durch Eintauchen in 1proz. Sublimat oberflächlich desinfiziert und in sterilem Wasser gründlich nachgewaschen. Ein anderer Teil blieb ohne Sublimatbehandlung. Darauf wurden die Wurzeln

mit einer sterilisierten Schere in 5 mm lange Stückchen geschnitten und einzeln auf einen abgeflammten, hohlgeschliffenen Objektträger in einen sterilen Wassertropfen gebracht. Hier wurden sie mit haarfein ausgezogenen Glasnadeln unter dem Präpariermikroskop zerrissen. Fanden sich verpilzte Parenchymzellen in dem Wurzelstück, so wurden kleine Verbände dieses Gewebes sorgsam herausgelöst und mehrmals in frische sterile Wassertropfen übertragen. Von da gelangten sie einzeln mit der Platinöse in den „hängenden Tropfen".

Als Nährlösung diente 1,5proz. leicht saurer Agar, dem Malzextrakt zugesetzt wurde, oder Malzextraktlösung. Zur Kontrolle wurden die gleichen Serien — je 5 Objektträger — auch mit neutralem Nährboden angesetzt. In späteren Versuchen wurde auch eine 2proz. Glukoselösung mit 0,1% Wittes Pepton benutzt. Über 80% der angesetzten Kulturen blieben vollkommen steril — auch die meisten nicht mit Sublimat gewaschenen Wurzelstückchen. Die Verunreinigungen bestanden bis auf zwei Ausnahmen nur aus Bakterien und Hefen. Aber ein Auswachsen des Endophyten wurde leider in keinem Fall beobachtet.

Nach diesen Erfahrungen war zu vermuten, daß der Pilz zum Auswachsen vielleicht doch einen größeren Luftraum benötigte. Es wurde also auf die Burgeffsche Methode der Kultur auf Agarplatten in Petrischalen zurückgegriffen und je 6 Stückchen auf eine Platte gebracht. Als Nährboden diente jetzt ausschließlich 1,5proz. Agar mit Malzextrakt-Zusatz. Zunächst wurden 8 Platten angesetzt. Auch hier blieben die meisten Stückchen steril. Hin und wieder stellten sich Verunreinigungen durch Bakterien und Hefen ein. In 4 Fällen zeigten sich am 2. Tage raschwüchsige Pilze, die sich aber bald an der Art ihres Wachstums und Aussehens als Verunreinigungen zu erkennen gaben.

Aus 2 Gewebestückchen begannen jedoch nach 5 Tagen ganz schwach einzelne Hyphen auszuwachsen, die am 7. Tage auf Malz-Agarröhren abgeimpft wurden. Bei wiederholten Isolierungsversuchen stellte sich noch zweimal auf dieselbe Weise der gleiche Pilz ein. In einem Fall wurde auch ein Pilz gefunden, der auf dieselbe Art auswuchs, wie es Demeter für seine aus Vinca minor isolierte Rhizoctonia Apocynacearum beschreibt (3, S. 436). Der Pilz gab sich in der Folge auch gleichfalls als Rhizoctonia zu erkennen.

Ehe wir nun eine Beschreibung der beiden isolierten Pilze geben wollen, die im folgenden mit M.r.G. Clusii a und b (Mycelium radicis, nach Burgeff 1911) bezeichnet werden sollen, wollen wir die Pilz-Isolierungsversuche aus Gentiana Clusii kurz zusammenfassen. Aus insgesamt 130 Gewebestückchen wurde neben wenigen Verunreinigungen 4mal M.r.G. Clusii a und 1mal M.r.G. Clusii b gewonnen. Die meisten Gewebestückchen blieben stets steril. Der Grund dafür ist wohl darin zu suchen, daß nur selten in den Gewebestückchen noch lebendes Myzel vorhanden war. Ob die Hyphen noch lebend sind oder nicht, läßt sich unter dem Präpariermikroskop bei der schwachen Vergrößerung kaum beurteilen.

Eine ältere Kultur von M.r.G. Clusii a ist von dunkelbraun-grüner Farbe und mit einem leichten grauen Flaum von Lufthyphen bedeckt. Gleich nach dem Isolieren aus der Wurzel wächst der Pilz sehr langsam, nachher jedoch rascher, aber bei weitem nicht so rasch wie Rhizoctonia. Da der Pilz bisher keinerlei Fruktifikationsformen bildete — auch keine Konidien — wird er vorab am besten den Mycelia sterilia zuzu-

rechnen sein. Die Hyphen sind septiert, im Jugendstadium 3—4 μ stark, verzweigen sich oft und haben starke Tendenz zur Anastomosenbildung. Die älteren Hyphen werden dicker, 5 μ, färben sich braun und gehen allmählich in lange Ketten von Dauerzellen über, die häufig verzweigt sind und viel Anastomosen aufweisen, was aus ihrer Entstehung — lediglich durch Umbildung des jungen Myzels — leicht erklärlich ist. Die älteren Hyphenteile, insbesondere die bis 8 μ stark werdenden Dauerzellen, enthalten sehr viel Fett (Abb. 13).

Um festzustellen, ob die Dauerzellen keimfähig sind, wurden Ausstriche von altem Myzel angelegt. Viele einzeln liegende Dauerzellen begannen schon am 2. Tage auszukeimen. Aber auch ganz kurze Stückchen jüngerer Hyphen — oft nur 3 Zellen — zeigten sich regenerationsfähig. In älteren Verbänden

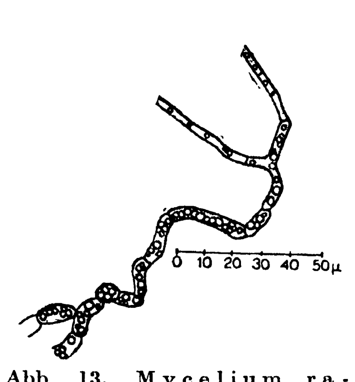


Abb. 13. Mycelium radicis Gentianae Clusii a. Starke Fettmengen in den Dauerzellen.

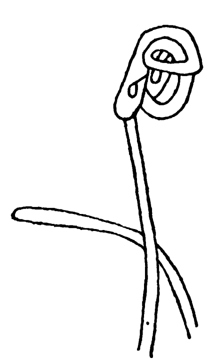


Abb. 14. Knäuelartige Verschlingungen der Hyphen von M. r. Gentianae Clusii a.

von Dauerzellen kommt es häufig vor, daß aus einzelnen Dauerzellen junge Hyphen auswachsen, deren ältere Teile dann bald wieder an der Basis in Ketten von Dauerzellen übergehen. In jüngeren Teilen des Myzels können häufig knäuelartige Verschlingungen von Pilzhyphen beobachtet werden (Abb. 14). Das Myzel von M.r.G. Clusii b ist gleichfalls septiert und deutlich in Lang- und Kurzhyphen gegliedert. Der Pilz ist sehr raschwüchsig, schon am 5. Tage nach dem Abimpfen hat er eine ganze Petrischale überzogen. Eine deutliche Sklerotienbildung beginnt aber erst etwa nach 10 Tagen; die Sklerotien sind gelblich bis bräunlich. Vergleicht man diesen Pilz mit den von Burgeff aus Orchideen isolierten Rhizoctonien (2 a, S. 20), so zeigt sich eine starke Übereinstimmung mit Orcheomyces labiatae. Außer der allgemeinen Beschreibung von Wuchsform u. dgl. stimmen die Angaben für die Durchmesser von Hyphen und Sporen sehr gut überein. Es soll dies jedoch nicht besagen, daß es sich in den beiden Fällen genau um den gleichen Pilz handelt; dieser Vergleich erfolgte nur, um die Beschreibung des Pilzes zu erleichtern.

Über die Isolierungsversuche aus Gentiana Walujewi und pneumonanthe wollen wir nur kurz berichten. Aus 80 Gewebestückchen von Gentiana Walujewi wurde 4mal M.r.G. Wal. a gewonnen, der dem M.r.G. Clusii a vollkommen gleicht; 2mal M.r.G.

Wal. b und 1mal M.r.G. Wal. c. M.r.G. Wal. b stellt gleichfalls ein steriles septiertes Myzel dar mit einem schwachen weißen Flaum von Lufthyphen. Die Masse des Myzels ist farblos. Ab und zu gehen auch hier ältere Teile des Myzels in Dauerzellen über; es kommt jedoch nie zur Ausbildung langer Ketten wie bei M.r.G. Wal. a, sondern meistens liegen nur 2—3 geblich gefärbte Dauerzellen nebeneinander, während die benachbarten Teile schon wieder ganz normale Hyphenzellen darstellen. Es handelt sich also auch hier nicht um Abschnürung von Konidiosporen, sondern ältere Teile des Myzels gehen in Dauerform über.

M.r.G. Wal. c ist ein Fusarium. Wahrscheinlich stellt er nicht einen Endophyten dar, sondern gelangte nur als Bodenverunreinigung in die Kultur. Da es sich aber um einen sehr häufigen Bodenpilz handelt, sollte er trotzdem nebenbei zur Synthese herangezogen werden, zugleich mit dem Zweck, die Versuche Gallauds (5 b, S. 514) nachzuprüfen. Gallaud erhielt bei Synthesen mit Fusarium nur Krankheitserscheinungen, aber nie eine Mykorrhizabildung.

Am schwierigsten gestalteten sich die Isolierungsversuche bei Gentiana pneumonanthe. Obwohl über 100 Gewebestückchen ausgelegt wurden, wurde nie ein Pilz gewonnen, der als Endophyt angesehen werden könnte. Es stellten sich hier und da Luftinfektionen ein, aber die meisten Kulturen blieben vollkommen steril.

Abschließend ist zu diesen Pilz-Isolierungsversuchen zu sagen, daß sie keineswegs Aufschluß über die Frage geben können, ob es sich tatsächlich um einen symbiontischen Endophyten handelt. Bei M.r.G. Clusii a und b sowie M.r.G. Wal. a halte ich die Wahrscheinlichkeit für ziemlich groß. Ein ähnlicher Pilz wie diese drei eben erwähnten scheint sich auch bei den Isolierungsversuchen von Demeter eingestellt zu haben. Er schreibt: „Weiterhin stellte sich 2mal ein Pilz ein von bräunlich grüner Farbe, der sich auf 2proz. Rohrzucker in kräftigen radialen Strähnen ausbreitet und reichlich monilienförmig abgegliederte Hyphen besitzt.“ Ob die „monilienförmige Abgliederung“ an den Hyphenenden oder in älteren Teilen des Myzels auftritt, gibt Demeter indessen nicht an.

Den eindeutigen Beweis kann stets nur die künstliche Synthese von Pilzreinkulturen mit steril aufgezogenen Sämlingen erbringen. Dabei ist zu bedenken, daß es durchaus möglich ist, daß es sich bei einer Pflanze nicht nur um einen Endophyten handelt, sondern daß mehrere verschiedene Pilze imstande sein können, als Mykorrhizabildner aufzutreten. Von der ektotrophen Mykorrhiza der Waldbäume ist dies dank den Arbeiten von Elias Melin (18) lange bekannt. Auch W. B. McDougall (16) beschreibt in neuerer Zeit in seiner Arbeit über die Baummykorrhiza in den Zentral-Rocky Mountains eine Reihe verschiedener Pilze — oft bis 7 verschiedene —, die als Mykorrhizabildner ein und desselben Waldbaumes auftreten. Selbst bei den Orchideen, in den Wurzeln von Platanthera chlorantha, einer einheimischen Kalkorchidee, hat Burgeff dreierlei Pilze gefunden (2 a, S. 103).

Anzucht steriler Sämlinge.

Für eigene Untersuchungen galt es nun, sterile Sämlinge zu ziehen. Hier tauchten für unser Material beträchtliche Schwierigkeiten auf, denn gerade die Enziane sind als schlechte Keimer bekannt. In der Gärtnerei hatten wir in diesem Punkt mehrfach sehr schlechte Erfahrungen gemacht.

Trotzdem die Samen dem Winterfrost ausgesetzt wurden, keimten sie nicht. Im Botanischen Garten, Berlin-Dahlem, dagegen macht die Sämlingsanzucht der Enziane kaum Schwierigkeiten. Die Samen werden im Januar ausgesät, dem Winterfrost ausgesetzt und ein hoher Prozentsatz keimt bereits im April. Drei Monate alte Sämlinge, die in gewöhnlicher Komposterde standen, die zu den meisten anderen Aussaaten gleichfalls benutzt wird, zeigten bereits eine starke Verpilzung der Wurzeln. Nur wenige Arten, z. B. Gentiana asclepiadea, sind etwas hartnäckiger bei der Keimung.

Herr Inspektor Jelitto vom Botanischen Garten, Berlin-Dahlem, glaubt, der wichtigste Punkt für eine gute Samenkeimung sei die Ernte der Samen im geeigneten Reifezustand. Von wissenschaftlicher Seite wurde diesem Punkt bisher gar keine Beachtung geschenkt. Stahl ist es damals überhaupt nicht gelungen, Enziansamen zum Keimen zu bringen. Kinzel (12) fand bei seinen Beobachtungen über „Frost und Licht als beeinflussende Kräfte bei der Samenkeimung" die Familie der Gentianaceen als Musterbeispiel für seine Untersuchungen heraus. Er schreibt Seite 62: „Keine Familie eignet sich so wie die Gentianen zum schrittweisen Verfolgen der Wirkungen von Licht und Frost und ihres wechselseitigen Ersatzes." Bei mehreren Arten wurden die besten Erfolge dadurch erzielt, daß trockene Samen — in der freien Natur noch in der Samenkapsel — längere Zeit dem Frost ausgesetzt wurden. Erfolgte danach eine Aussaat unter Belichtung, so trat die Keimung bald ein. Dieses trockene Durchfrieren soll z. B. bei Gentiana acaulis – selbst wenn die Samen erst 4 Jahre später ausgesät wurden — noch eine günstige Nachwirkung ausüben.

Diese Erfahrungen Kinzels, die unter natürlichen Bedingungen aus Versuchen im Freien gewonnen sind, galt es im Laboratorium nachzuahmen. Aber zuvor mußten die Samen noch einer Desinfektion unterzogen werden. Es schien empfehlenswert, die unschädlichste Methode zu wählen, da Keimproben bei Enzian aus den eben besprochenen Gründen nicht durchzuführen sind. Es wurde daher — fußend auf den Untersuchungen Pringsheims (24) folgende Zusammenstellung gewählt: Vorbehandlung mit warmem Wasser und Luftpumpe, Desinfektion mit 1proz. Bromwasser und Nachbehandlung mit 0,2proz. Natriumthiosulfat und sterilem Wasser.

Saatgut von Gentiana Clusii aus den bayerischen Alpen, G. Walujewi und asclepiadea aus dem Botanischen Garten, Berlin-Dahlem, und G. pneumonanthe aus dem Spandauer Stadtforst wurde zu diesen Versuchen herangezogen. Die Samen wurden zunächst in Wasser von 40° C aufgeschwemmt und unter der Wasserstrahlluftpumpe sorgfältig von der anhaftenden Luft befreit, weil nur dann das Desinfektionsmittel schnell und gleichmäßig angreifen kann. Alle nicht untergesunkenen Samen wurden von der weiteren Behandlung ausgeschlossen.

Um mich einigermaßen über die erforderliche Desinfektionszeit zu informieren, wurde ein Testversuch mit Gentiana pneumonanthe angesetzt. Eine abgezählte Menge 3 Min. lang in 1 proz. Bromwasser geschüttelter Samen wurden auf sterilen Malz-Agarplatten ausgelegt. Der Erfolg war gut; nur 2% der Samen zeigten sich nach einer Woche als ungenügend desinfiziert. Diese Desinfektionszeit wurde also beibehalten, da es mir besser schien, 2% Verunreinigungen hinzunehmen, als Gefahr zu laufen, den Samen zu beschädigen.

Leider versäumte ich, mit den 3 übrigen Enzianarten gleiche Testversuche anzustellen, sondern die Ergebnisse mit Gentiana pneumo-

nanthe wurden ohne Bedenken auf Gentiana Clusii, Walujewi und asclepiadea übertragen. Erst viel später stellte sich heraus, daß die Desinfektionszeit, die wohl für Gentiana pneumonanthe zureichend war, für die 3 anderen Arten keineswegs genügte.

Die Versuchsanordnung bei der Samendesinfektion war folgende: Nach dem Schütteln in Bromwasser wurden die Samen auf einem sterilisierten Filter gut mit Natriumthiosulfat und dann mehrmals mit sterilem Wasser durchgewaschen. Von da wurden sie mit dem ausgeglühten Platinspatel in sterilisierte, mit Fließpapier ausgelegte Reagenzröhren gebracht, wo sie rasch abtrockneten. Ein Teil der auf diesem Wege desinfizierten Samen wurde 24 Std. lang in sterilem Wasser eingequollen und dann mit den anderen einer künstlichen Frostbehandlung ausgesetzt. Ein weiterer Teil gelangte undesinfiziert zur Frostbehandlung und danach zur Aussaat.

Die Frostbehandlung geschah durch Einbringen der sterilen Reagenzröhren in eine Kältemischung (Eis mit Viehsalz), die täglich erneuert wurde. Dadurch wurde das Saatgut einer täglichen Temperaturschwankung von etwa 20° C unterworfen, von — 10° auf + 8—12° C. Diese Behandlung wurde 10 Tage lang bei natürlicher Belichtung durchgeführt. Vor der Aussaat blieb das Saatgut noch weitere 3 Wochen unbehandelt im Licht stehen. Als ich dann zur Aussaat schreiten wollte, bemerkte ich, daß von den undesinfizierten, in angequollenem Zustand der Frostbehandlung unterworfenen Samen von Gentiana Walujewi ein Teil bereits zu keimen begann.

Die Aussaat wurde Ende November 1931 auf verschiedene Art vorgenommen; einmal auf Schrägagarröhren und zum anderen auf sterilem Sand. An Nährstoffen wurde dem Agar 0,2% Knopscher Nährlösung zugesetzt, sowie etwas Malzextrakt, um etwa auftretende Verunreinigungen rasch erkennen zu können. Der Sand wurde in kleine Erlenmeyerkolben gefüllt und mit 0,2proz. Knopscher Nährlösung angefeuchtet. Verschlossen wurden die Kolben mit einem Wattebausch, durch den eine Pipette in den Sand gesteckt wurde, um das verdunstete Wasser leicht ersetzen zu können. Die Pipette wurde ebenfalls mit einem kleinen Wattebausch verschlossen. Sodann wurden die fertigen Kolben 3mal je ½ Std. im Dampftopf sterilisiert. Die Samen wurden später steril mit einer ausgeglühten Platinnadel übertragen, je 4 auf die Schrägagarröhren und je 10 in die Erlenmeyerkolben. Von jeder der 4 Enzianarten wurden 10 Röhren mit desinfizierten und 10 mit undesinfizierten Samen angesetzt. Bei den Erlenmeyerkolben handelte es sich um die gleiche Anzahl.

Hier zeigte es sich nun bald, daß die Samendesinfektion nur für Gentiana pneumonanthe ausgereicht hatte; alle 10 Reagenzröhren mit desinfizierten Samen blieben steril, von Gentiana Clusii 4; von G. Walujewi 1 und von G. asclepiadea keine einzige.

Da die Schrägagarröhren so viele Verunreinigungen aufwiesen, wird man nicht annehmen dürfen, daß die gleich behandelten Samen in den Erlenmeyerkolben auf sterilem Sand besser desinfiziert waren; wenngleich sie auch makroskopisch keine Schimmelbildung oder dergleichen zeigten. Aus dieser Tatsache sieht man deutlich, wie dringend notwendig solche Kontrollversuche auf Agar sind, wenn man sterile Keimlinge erziehen will.

Die ersten Keimungen von G. pneumonanthe und G. Walujewi begannen dann — abgesehen von den unsterilen Samen von Gentiana Walujewi, die bereits z. T. noch im Herbst gekeimt waren — Mitte März 1932. Leider war es aber nur eine sehr geringe Ausbeute; von Gentiana Clusii und G. asclepiadea erhielt ich keinen einzigen Sämling. Im Herbst 1932 wurden diese Kulturen daher vernichtet.

Anfang Juni 1932 verfügte ich dann über 10 sterile und 14 unsterile Keimlinge von Gentiana pneumonanthe und 5 unsterile von Gentiana Walujewi, die aus den Schrägagarröhren stammten. Da bei den Keimlingen in den Erlenmeyerkölbchen auf sterilem Sand die Sterilität zweifelhaft war, wurden sie alle als unsteril betrachtet. 26 un-

sterile Keimlinge von Gentiana pneumonanthe waren also vorhanden und 34 unsterile von Gentiana Walujewi.

Eines ist aus diesen Versuchen klar zu ersehen, daß nämlich Gentiana pneumonanthe zum mindesten nicht keimmykotroph ist, d. h. der Pilz ist zur Keimung des Samens nicht erforderlich. Auch scheint es, daß sich das Desinfizieren hier nicht schädlich auf die Keimkraft des Samens ausgewirkt habe. Allerdings bedarf bei der geringen Anzahl von Versuchspflanzen auch dieses Ergebnis noch weiterer Nachprüfung.

Syntheseversuche.

Nach diesem geringen Erfolg bei der sterilen Sämlingsaufzucht waren beweiskräftige künstliche Synthesen kaum durchzuführen. Die einzigen zuverlässigen Keimlinge waren die 10 sterilen aus Schrägagarröhren von Gentiana pneumonanthe. Aber gerade bei diesem Enzian war es nicht gelungen, einen Wurzelpilz zu isolieren. Es mußte daher zu einer anderen, etwas primitiveren Versuchsanstellung gegriffen werden, die wenigstens darüber Auskunft gibt, ob die Mykorrhiza durch einen Bodenpilz verursacht wird oder nicht.

Zu diesem Zweck wurden die 10 Sämlingspflanzen in Erlenmeyerkölbchen mit Glaskappen gebracht, in eine Erde, die aus dem Wurzelballen einer erwachsenen verpilzten Pflanze von Gentiana pneumonanthe aus dem Spandauer Stadtforst stammte. Nach 6 Wochen wurden die Wurzeln dieser Pflänzchen untersucht. Es zeigte sich, daß eine Infektion bereits stattgefunden hatte, es fanden sich auch schon regelrechte Pilzklumpen in den Rindenzellen der Wurzeln. Aus diesem Versuch ergibt sich, daß bei Gentiana pneumonanthe der eine Mykorrhizabildung verursachende Pilz aus dem umgebenden Erdreich stammt.

Da die Keimlinge in den geschlossenen Erlenmeyerkölbchen unter zu geringer Transpiration zu leiden schienen, wurden sie später mit der gleichen Erde in Stecklings-Tontöpfchen übertragen. Zur Kontrolle wurden zugleich die unsterilen Keimlinge von Gentiana pneumonanthe in 3mal fraktioniert im Autoklaven sterilisierte Standortserde gepflanzt und das Wurzelwerk von 5 so behandelten Pflänzchen nach 2 Mon. untersucht. Trotz sorgfältiger Beobachtung konnten nirgends Spuren einer Infektion entdeckt werden.

Aus diesem Kontrollversuch ist zu ersehen, daß bei undesinfizierten Samen in sterilem Boden keine Infektion erfolgt; der Pilz scheint hier also nicht mit dem Samen übertragen zu werden, wie es Rayner (26) bei den Ericaceen beobachtet hat.

Bei Gentiana Clusii lagen die Verhältnisse gerade umgekehrt wie für Gentiana pneumonanthe. Hier sollten zwei Pilze auf ihre Echtheit als endophytischer Symbiont nachgeprüft werden — aber ich hatte keine Sämlinge erhalten. Statt dessen wurde in Ermangelung eines Besseren auf Stecklinge aus dem Botanischen Garten zurückgegriffen. Diese Methode hat sich in der Folge aber als sehr unzweckmäßig erwiesen, da es trotz gründlichen Waschens in 0,1proz. Sublimatlösung und Nachspülen in sterilem Wasser nicht gelungen ist, die Stecklinge von den anhaftenden Verunreinigungen genügend zu befreien. Dazu kommt, daß in der feuchten Atmosphäre im geschlossenen Erlenmeyerkölbchen der Steckling bald kümmert, die Reste der verbliebenen Verunreinigungen da-

gegen optimale Bedingungen finden. Daher faulten die Stecklinge stets, ehe eine Wurzelbildung erfolgt war. Um die Bedingungen für den Steckling günstiger zu gestalten, wurde ein zweiter Versuch in Stecklingstöpfchen angesetzt und zeitweilig Glasglocken darübergestülpt, um die Luftfeuchtigkeit etwas zu erhöhen. Aber auch hier war kein Erfolg zu verzeichnen, was nicht sehr verwunderlich ist, da sich Enzianstecklinge meist schwer bewurzeln. Was in der Gärtnerei unter dem Namen „Stecklingsvermehrung" bei Gentiana acaulis geschieht, ist in Wahrheit eine Vermehrung durch „Abrisse", denn ein längeres Rhizomstück, möglichst sogar mit ein paar Wurzeln, wird am sog. Steckling belassen.

Von Gentiana Walujewi besaß ich 39 Sämlinge, aber es ließ sich nicht feststellen, ob einige davon steril waren. Trotzdem wurden mit diesen Pflänzchen Syntheseversuche eingeleitet. Hätten die Kontrollen in steriler Erde ohne Pilzzusatz ein Wurzelwerk, frei von jeglicher Infektion ergeben, und hätten nur die Pflänzchen mit Pilzzusatz in Substrat eine Mykorrhizabildung gezeigt, so wäre der Versuch trotzdem beweiskräftig gewesen.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermaßen: Der Boden von kleinen Erlenmeyerkölbchen, die durch eine passende Glaskappe verschließbar waren, wurde mit einer dünnen Malz-Agarschicht bedeckt und der Pilz M.r.G. Wal. a darauf geimpft. Hatte der Pilz die Agarschicht überzogen, so wurde Komposterde, die 3mal im Autoklaven je eine Stunde sterilisiert worden war, vorsichtig in die Erlenmeyerkölbchen hineingefüllt. Nach 4 Wochen etwa hatte der Pilz die Erde einigermaßen durchzogen, so daß die Sämlinge von Gentiana Walujewi hineingepflanzt werden konnten.

Zur Kontrolle kam die Hälfte der Sämlinge in Kölbchen, die nur sterilisierte Erde ohne Pilzzusatz enthielten. Leider stellten sich in der Folge bald Fremdinfektionen ein, die das Wachstum der Pflänzchen stark beeinträchtigten. Die Pflänzchen sind ohnedies infolge der mangelhaften Transpiration sehr geschwächt und fallen daher jeder Infektion leicht zum Opfer. Die Sämlinge, die nach 2 Monaten noch ein einigermaßen gesundes Aussehen zeigten, wurden dann näher untersucht. Es zeigte sich leider, daß auch bei diesen Pflänzchen die Wurzeln fast gänzlich abgefault waren, obwohl die Erde im Kölbchen ziemlich trocken gehalten worden war. Unter dem Mikroskop war deutlich zu erkennen, daß das gesamte Pflänzchen von Pilzhyphen durchzogen war. Auch der Zentralzylinder, der sonst von Hyphen verschont bleibt, war von Myzel durchsetzt.

Mängel der Versuchsanordnung.

Aus diesem negativen Erfolg bei den künstlichen Synthesen ist leicht zu ersehen, daß eine derartige Versuchsanordnung für Pflanzen, die unserem Freilandklima angepaßt sind, wie z. B. unsere Enziane, nicht zuträglich ist. Es ist unbedingt erforderlich, auf irgendeine Weise für eine bessere Durchlüftung der Kulturgefäße zu sorgen, so daß eine ausreichende Transpiration gewährleistet ist. Die Orchideen, als Gewächse der Tropen, stellen in diesem Punkt gewiß nicht so hohe Anforderungen. Andererseits ist gerade eine gute Durchlüftung nicht leicht mit absoluter Sterilität der Kulturgefäße zu kombinieren. Ehe indessen diesen beiden Bedingungen nicht hinreichend entsprochen ist, wird den Syntheseversuchen bei gewissen Pflanzen kein Erfolg beschieden sein.

Außerdem scheint mir das Sterilisieren der Erde durch Erhitzen nicht günstig, da die Erde dadurch Veränderungen erleidet, die schwer zu kontrollieren sind und sich auf die Pflanzen oft ungünstig auswirken können. Daher scheint mir ein Sterilisieren der Erde mit Chloroform oder Äther trotz allem empfehlenswerter zu sein. Die Sterilität der Erde läßt sich laufend am besten auf die Weise kontrollieren, daß in bestimmten Zeitabständen Proben entnommen und auf Malz-Agar oder ein gleich nährstoffreiches Substrat ausgelegt werden. Zeigen sich hier Verunreinigungen, so ist die Kultur zu vernichten. Weit bequemer wäre es ja, die Kulturen für Syntheseversuche auf sterilem Sand mit Nährlösung oder gar auf Agar anzusetzen. Rayner hat jedoch festgestellt, daß auf derartigen Substraten keine regelrechte Mykorrhiza gebildet wird. Ob das nur für Ericaceen zutrifft oder auch für viele andere Pflanzen, müßte erst noch nachgeprüft werden.

Zusammenfassung.

1. Die Wurzeln folgender Gentianaarten wurden untersucht und bei allen eine Mykorrhizabildung festgestellt:

G. lutea	G. dahurica	G. Burseri
G. purpurea	G. sineornata	G. Walujewi
G. punctata	G. cruciata	G. pneumonanthe
G. asclepiadea	G. pannonica	G. Clusii bzw. acaulis hort.

2. Die Vorgänge in der Wirtszelle bei der Verdauung der Pilzhyphen wurden beobachtet und eine gute Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur über die Mykorrhiza saprophytischer Gentianaceen gefunden.
3. Die Gentiana-Mykorrhiza steht von allen anderen untersuchten endotrophen Mykorrhizatypen der Orchideen-Mykorrhiza am nächsten.
4. Aus den Wurzeln von Gentiana Clusii konnten 2 Pilze und aus denen von Gentiana Walujewi 3 Pilze isoliert werden, die zunächst M.r.G. Clusii a und b und M.r.G. Wal. a, b und c genannt wurden. M.r.G. Clusii b konnte als Rhizoctonia identifiziert werden.
5. Gentiana pneumonanthe ist nicht keimmykotroph, es gelang, sterile Sämlinge heranzuziehen.

Nach Verpflanzen in Standortserde dringt aus dieser der Pilz in die Wurzel und vermag eine normale Mykorrhizabildung auszulösen.

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Miehe begonnen, der ihren Abschluß leider nicht mehr erlebt hat. Ich möchte hier in Dankbarkeit seiner gedenken. Ebenso danke ich Herrn Prof. Mevius für die Überlassung eines Arbeitsplatzes zur Beendigung der Arbeit.

Literaturverzeichnis.

1. Brauner-Detmer, Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum. 1. Teil. Jena (Gustav Fischer) 1929. — 2. a) Burgeff, H., Die Wurzelpilze der Orchideen. Jena (Gustav Fischer) 1909. — b) Burgeff, H., Die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen. Jena (Gustav Fischer) 1911. — c) Burgeff, H., Saprophytismus und Symbiose. Jena (Gustav Fischer) 1932. — 3. Demeter, K., Über „Plasmoptysen"-Mykorrhiza. (Flora. N. F. Bd. 16. S. 405. 1923.) — 4. Figdor, H., Über Cotylanthera Bl. Ein Beitrag zur Kenntnis tropischer Saprophyten. (Ann. d. Jard. bot. d. Buitenzorg. T. 14. p. 213.) — 5. a) Gallaud, I., Études sur les Mycorhizes endotrophes. (Revue gen. Botan. T. 17. p. 1. 1905.) — b) Gallaud, I., De la place systématique des endophytes d'Orchidées. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. 138. p. 513. 1904.) — 6. Goebel, K., Organographie der Pflanzen. III. Teil.

Jena (Gustav Fischer) 1923. — 7. Hegi, G., Illustrierte Flora von Mitteleuropa. V, 3. München (Lehmann) 1927. — 8. Holm, T., Obolaria virginica L. A Morphological and Anatomical Study. (Ann. of Bot. Vol. 11. p. 369. 1897.) — 9. Howe, Car. G., Pectic Material in Root Hairs. (Bot. Gaz. T. 72. p. 313.) — 10. Janse, J. M., Les Endophytes radicaux de quelques plantes Javanaises. (Ann. d. Jard. d. Buitenzorg. T. 14. p. 5.) — 11. Johow, F., Die chlorophyllfreien Humusbewohner Westindiens. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 16. S. 415. 1885.) — 12. Kinzel, W., Frost und Licht als beeinflussende Kräfte bei der Samenkeimung. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1913. — 13. Kroomer, K., Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis bei Angiospermenwurzeln. (Bibl. Bot. H. 59. Stuttgart 1903.) — 14. Kusano, S., Gastrodia elata and its symbiontic association with Armillaria mellea. (Journ. Agric. Coll. Vol. 4, 1. p. 1. Tokyo 1911.) — 15. Lepik, E., Anatomische Untersuchungen über die durch Plasmopara viticola erzeugten Subinfektionen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. 41. S. 23.) — 16. Mc. Dougall and Jacobs, Margaret C., Tree Mycorrhizas from the Central Rocky Mountains. (Amer. Journ. of Bot. Vol. 14. p. 2.) — 17. Mc. Lennan, E., The Endophytic Fungus of Lolium. II. The Mycorrhiza in the Roots of Lolium temulentum. (Ann. of Bot. Vol. 40. S. 43. 1926.) — 18. Melin, E., Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Jena (Gustav Fischer) 1925. — 19. a) Meyer, A., Wissenschaftliche Drogenkunde. I. Teil. S. 279. Berlin 1891. — b) Meyer, A., Beiträge zur Kenntnis pharmazeutisch wichtiger Gewächse. V. Über Gentiana lutea. (Archiv f. Pharmacie. 3. Reihe. Bd. 21. 1883.) — c) Meyer, A., Morphologische und physiol. Analyse der Zelle der höheren Pflanzen und Tiere. Jena (Gustav Fischer) 1920. — 20. Molisch, H., Mikrochemie der Pflanze. Jena (Gustav Fischer) 1913. — 21. Perrot, Anatomie comparée des Gentianacées. (Ann. d. Sciences Nat. 8. Ser. T. 7. 1898.) — 22. a) Peyronel, B., Ricerche sulle micorize endotrofiche. (Rivista d. Biologia. T. 5. p. 463 und T. 6. p. 17. 1923 u. 1924.) — b) Peyronel, B., Fructification de l'endophyte à arbuscules et à vésikules des Mycorhizes endotrophes (Bull. Trim. Soc. Mycol. de la France. T. 39. S. 119.) — 23. Plaut, Monko, Über die Veränderungen im anatomischen Bau der Wurzel während des Winters. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 48. 1910.) — 24. Pringsheim, E. G., Vergleichende Untersuchungen über Saatgutdesinfektion. (Angew. Botanik. Bd. 10. 1928. S. 208.) — 25. Ramsbottom, J., Orchid Mycorrhiza. (Brit. Mycol. Soc. Transact. Vol. 8. 1922. p. 28.) — 26. Rayner, M. C., Mycorrhiza. (New Phytologist Reprint. No. 15. London 1927.) — 27. Schneider-Zimmermann, Die botanische Mikrotechnik. Jena (Gustav Fischer) 1922. — 28. Schroeter, C., Das Pflanzenleben der Alpen. Zürich (Raustein) 1926. — 29. Schwartz, E. J., Asarum Europaeum and its Mycorrhiza. (Ann. of Bot. Vol. 26. 1912. p. 769.) — 30. Scott and Brebner, Internal Phloem. (Ann. of Bot. Vol. 5. p. 277. 1891.) — 31. Stahl, E., Der Sinn der Mycorrhizenbildung. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 34. 1900. S. 539.) — 32. Strasburger, E., Das Botanische Praktikum. Jena (Gustav Fischer) 1921. — 33. Tschirch-Oesterle, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie. Leipzig (Tauchnitz) 1900. — 34. Tunmann, O., Pflanzenmikrochemie. Berlin (Borntraeger) 1931.

The Significance of True B. coli (B. coli communis) and B. lactis aerogenes in Samples of Milk.

By C. H. Chalmers, B. Sc.,

Assistant Lecturer in Botany and Bacteriology, The University, Leeds.

Introduction.

During the summer of 1930 an investigation was undertaken to determine the cause of the persistent contamination of samples of "Certified" milk[1]) (1) with B. lactis aerogenes. The results of many experiments and tests suggested that the organism was gaining entrance to the milk in two ways, namely from the outside of the udder, and also from an intermittent infection through the teat canal.

The farmer was fully conversant with clean milk methods and for five years prior to July 1930 had produced "Certified" milk which easily satisfied the bacterial standard.

The following table, Table 1, gives a summary of the reports of the Ministry of Health on samples taken from both farms[2]) between 26th August and 10th October 1930.

Table 1.
Age of samples when examined . . . 5 hours.

Date when sample was taken	Farm at which the milk was produced	Total number of organisms per c. c.	Coliform Organisms c. c.
1. 26th August	Farm A	1020	+ 1/10th
2. 26th August	,, B	1333	— 1/10th
3. 26th September . .	,, A	1050	+ 1/10th
4. 26th September . .	,, B	250	+ 1/10th
5. 2nd October	,, A	650	+ 1/10th
6. 2nd October	,, B	600	+ 1/10th
7. 10th October	,, A	1080	+ 1/10th
8. 10th October	,, B	1550	+ 1/10th

It will be seen from these results that the total number of organisms per cubic centimetre of the milk was very low — in no case was the total count higher than 1,550 — yet coliform organisms were present in 1/10th part of a cubic centimetre in all but one sample. Such low bacterial counts coupled with the presence of coliform organisms are unusual. Samples of milk from these farms, examined in our own laboratories, confirmed these results.

1) The bacterial standard for "Certified" milk requires that the milk shall not contain more than 30,000 organisms per cubic centimetre and that coliform organisms shall not be present in 1/10th of a cubic centimetre at any time before delivery to the consumer.

2) This producer controls two farms, both of which are licensed for the sale of "Certified" milk. The newly calved cows are kept at Farm A for the first few months of their lactation, after which they are transferred to Farm B.

Further examination of the samples showed that the coliform organisms present in the milk consisted almost entirely of B. lactis aerogenes, other members of the coli group being present in very small numbers.

Experiments carried out on other farms showed that B. lactis aerogenes is not infrequently present in milk, even in samples which satisfy the standard for "Certified" milk with regard to Coliform organisms. This is supported by the work of Rogers, Clark and Davis (2) who examined a large number of samples of marked milk and found that about 50 per cent of the coliform organisms present were indistinguishable from B. lactis aerogenes. Chalmers (3) examined 32 samples of "Certified" milk and found a similar result, namely that 29.6 per cent of the lactose fermenting coliforms present resembled B. lactis aerogenes, whilst only 19.9 per cent had the characters of B. coli communis. The recent work of Miss Edmunds of the National Institute for Research in Dairying confirmed these results. (Private communication[1]).

The presence of aerogenes organisms in samples of milk, therefore, is of extreme importance, and provokes the following questions, namely:

(a) What is the probable source of B. lactis aerogenes? Does the presence of the organism indicate faecal contamination of the milk?

(b) Is the presence of the organism in milk deleterious from a dietetic aspect?

(c) Can the present presumptive B. coli test be modified so as to distinguish between B. coli and B. lactis aerogenes?

Part 1.

(a) What is the probable source of B. lactis aerogenes? Does the presence of the organism indicate faecal contamination of the milk?

Rogers, Clark and Evans (4) examined a large number of samples of bovine faeces and showed that B. lactis aerogenes was present in very small numbers. To quote from their paper "Our investigations have demonstrated that the colon bacteria of the bovine intestine belong, apparently almost without exception, to a single sharply defined type characterised by the production of hydrogen and carbon dioxide in proportion of 1 to 1.06" (that is the low ratio group characterised by B. coli communis) and that "special methods failed to give evidence of the presence in bovine faeces of the high gas ratio group" (i. e. B. lactis aerogenes).

Similar work has been carried out by Rogers et alia (4), MacConkey (5), Winslow and Cohen (6), Cruickshank (7), Allen Gray (8) and others, and it may now be definitely assumed that B. lactis aerogenes is present in fresh bovine faeces in comparatively small numbers. It is interesting to note, however, that there is an increase in the number of B. aerogenes in faeces which have been stored [Jordan (9) and Gray (8)]. The true B. coli multiply rapidly at first, and then show a gradual decrease. Gray states "The decrease coincides with an increase in the number of B. aerogenes relative to the organisms present. Whether an absolute increase in the number of aerogenes occurs has not been determined".

[1]) These results have since been published in the Journal of Dairy Research, p. 17, Kon. (Edmunds). Vol. 4. No. 2. p. 206—212.

On the other hand, during recent years much work has been carried out on the predominating type of coliform organism present on grain, cereals and tubers by Laurent (10), Klein and Houston (11), Prescott (12), Rodgers (3) and others — and in soil and water which have probably not been contaminated with faeces, by Jordan (13), MacConkey (5) and Houston (14) — and also in dust by Schobl and Ramirez (15). The results of these investigations show that the predominating type in such material is B. lactis aerogenes.

Gray (8) carried out an investigation on the significance of coliform organisms in a municipal water supply, and states that "in the municipal supply of Liverpool the proportion of B. aerogenes to B. coli is relatively high and increases on storage". Dr. Sutherland (Bacteriologist to the West Riding County Council of Yorkshire) too, holds the view (private communication) that in many municipal water supplies (Plymouth and Glasgow) and other water supplies where contamination with faeces is remote, the predominating coliform is B. aerogenes.

It may be concluded, therefore, that both types of coliform organisms, namely B. coli and B. aerogenes, are widely distributed in nature. In fresh faeces B. coli is predominant, whereas in water, soil, dust, etc., not recently contaminated with faeces, B. aerogenes is the predominating organism. This may be due in part, at least, to the greater facultative properties of B. aerogenes.

From the above evidence it seems reasonable to assume that milk showing a preponderance of B. coli communis has probably been contaminated with fresh faeces, whereas one showing a preponderance of B. aerogenes has received its contamination either from water or from the dust of soil or cereals. This assumption is strengthened by the work carried out on the farms cited at the beginning of this paper. No B. coli communis organisms were present in any of the samples of milk examined, and this result was to be expected since every precaution was taken to avoid faecal contamination of the milk. It does not, however, explain how the organisms were gaining entrance to the milk in this particular case.

Experimental.

Experiments were therefore, carried out at one of the farms (cited at the beginning of this paper) to determine the method of entry of the B. aerogenes organisms into the milk.

Preliminary tests showed that the utensils used in the production of the milk were sterile, and that the contamination of the milk was not taking place in the dairy where the milk was cooled and bottled. Moreover, the air and water supply in the cowshed were examined and found to be satisfactory. The results of these tests are given in Table 2. There was no bedding and the preparation of the cows before milking was thoroughly carried out; the final rinsing of the udders and teats being done with care. The B. aerogenes organisms, therefore, were not gaining entrance to the milk directly from dust in the cowshed or from water used during the preparation of the cows.

It was, therefore, decided to determine whether the organisms were gaining access to the milk during the normal milking operation, or whether they were actually present in the milk as drawn from the udder.

Table 2.
The Results of the Bacteriological Examination of the Air and of The Water Supply of the Cowshed.

Air of the Cowshed.

Medium used — Petri plates containing Nutrient agar.
Number of plates exposed at each test — 6.

	Tests		
	1st.	2nd.	3rd.
Average number of colonies, per plate per min. . .	39	63	23
Number of organisms falling per min. per sq. inch.	4	6.5	2.3
Coliform organisms	—	—	—

Water used in Cowshed.

Coliform organisms not present in 25 c. c.

To determine this, samples of milk were drawn directly into sterile bottles. (Attempts were made to take the samples by sterile teat syphon, but this was found to be impracticable with such a large number of cows, namely 32.)

The cows were thoroughly prepared in the usual way and the fore-milk rejected. The teats were then dipped in alcohol and a few jets of milk — about 25 c. c. — carefully drawn from each cow in the herd. The samples were not cooled, and were kept at about 60° F. for 20 hours before being examined by the presumptive B. coli test, in order to permit of some bacterial multiplication.

The results showed that of the 32 cows in the herd, 13 gave milk in which coliform organisms were absent in 10 c. c., whilst 19 gave milk which showed the presence of these organisms to a varying extent in from 1/100th part of a cubic centimetre to 2 cubic centimetres.

This experiment was repeated to determine if the 19 cows consistently produced milk containing coliform organisms. The results showed that 17 samples of milk were on this occasion free from coliform organisms (in 10 c. c.), whilst 15 were contaminated to a varying extent. It was noted that many of the samples which were positive at the first test were negative at the second test, and vice versa. This experiment was repeated several times with similarly conflicting results.

It seemed probable therefore, that the coliform organisms were invading the teats and udder between milkings. If this were so it was to be expected that samples of milk drawn at different stages during milking would show a decreasing contamination.

Four cows which had consistently given milk contaminated with äerogenes were tested at different stages in milking, viz.,

A. The fore-milk.
B. The milk immediately following the removal of the fore-milk.
C. When about 2/3rds of the total milk had been drawn off.
D. The strippings.

Each sample represented the mixed milk of all four quarters. The samples were not cooled and were examined for Coliform organisms when 20 hours old.

The results are given in Table 3.

This experiment was repeated on three separate occasions with similar results.

These results appeared to show that as the milking proceeded the contamination with coliform organisms tended to diminish.

Table 3.

The Results of the Examination of Samples taken at Different Stages during Milking.

No. of Cow	Stage of Milking	Coliform Organisms				
		10 c. c.	2 c. c.	1 c. c.	1/10 c. c.	1/100 c. c.
129	A	+	+	+	+	—
	B	+	+	+	—	—
	C	—	—	—	—	—
	D	—	—	—	—	—
135	A	+	+	+	—	—
	B	+	—	—	—	—
	C	+	—	—	—	—
	D	—	—	—	—	—
103	C	+	+	+	+	—
	D	+	+	+	—	—
171	C	+	+	—	—	—
	D	—	—	—	—	—

A further examination was made of the coliform organisms present in the samples and in every case B. lactis aerogenes was the only coliform organism present.

In order to test if the milk from each quarter of the udder were equally contaminated with the organisms, samples of milk were drawn into sterile bottles from each quarter of two cows, after the fore-milk had been discarded. The results of these samples are given in Table 4 and it will be seen that while coliform organisms were present in the milk of some quarters, milk from other quarters of the same cow showed no coliform organisms in any of the dilutions.

Table 4.

The Results of the Examination of Samples of Milk taken from Different Quarters of the Same Cow.

No. of Cow	Quarter	Coliform Organisms				
		10 c. c.	2 c. c.	1 c. c.	1/10 c. c.	1/100 c. c.
103	1	+	+	+	+	—
	2	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—
	4	+	+	+	+	—
117	1	+	+	[illegible]	—	—
	2	+	+	+	—	—
	3	+	+	+	—	—
	4	—	—	—	—	—

The results of these two experiments appear to support the view that the milk in the milk sinus became invaded with coliform organisms between milking by way of the teat canal.

To ascertain if this theory were correct, that is, if the organisms were gaining entrance to the milk sinus by way of the teat canal, the teats of each cow in the herd were sealed with collodion immediately after milking. At the next milking each teat was dipped in alcohol, the seal carefully removed, and a few jets of milk drawn from each quarter of every cow, each into a sterilised bottle. The experiment was repeated four times, but the results were very conflicting; on each occasion a few of the samples showed the presence of the organism B. lactis aerogenes, whilst the other samples were free.

The results of this last experiment were difficult to explain and it was suggested, in view of the very highly capsulated nature of the aerogenes' organisms, that some slight contamination of the samples may have been due to organisms falling from the outside of the udder during sampling. Petri plates were, therefore, exposed for 2 minutes under the udders of a number of cows during milking. Fourteen of the thirty-two plates showed colonies of B. lactis aerogenes, other coliform organisms being absent. The number of aerogenes colonies per plate varied from 2 up to 47. These results were confirmed by taking swabs from the outside of the udders of thirteen cows. On examination B. lactis aerogenes was found to be present on five of the thirteen swabs.

From these experiments, therefore, it appeared that B. lactis aerogenes was not being removed by the ordinary methods of washing the udders.

To determine if B. lactis aerogenes were present on the outside of the udder of cows of a normal herd, after ordinary washing, the above experiments were repeated at a farm where the milk supply was known to be free from coliform organisms. The results of these experiments showed that ordinary washing of the udders as normally carried out removes all the organisms with the exception of a few cocci, and that samples of milk could be drawn which did not show the presence of coliform organisms in 10 cubic centimetres.

To ensure the removal of the aerogenes organisms from the outside of the udders of the abnormal herd, the udders were washed with a 1% solution of formalin, after having been cleaned in the usual way. Samples of milk were drawn from a number of cows, after the fore-milk had been rejected and at the same time Petri plates were exposed under the udders. The results showed that although the formalin had removed the organisms from the outside of the udders, the samples of milk were not entirely free from contamination. This experiment was repeated on a number of occasions with similar results.

The results of all these experiments led to the view that there were two sources of contamination, namely:

(1) The teat canal — i. e. the organisms were gaining entrance to the milk in the sinus, between milkings, by way of the teat canal.

(2) The outside of the udder — i. e. owing to the slimy nature of the aerogenes organisms, ordinary methods of washing failed to remove them. As the udder dried during the milking process the organisms became dislodged and fell into the milking pail.

It was thought that the continued use of formalin on the udders might in time cause dermatitis, and consequently a solution of 2% sodium benzoate was tried. This, however, was not found to be so efficient as formalin.

A mixture of Izal (½ fluid ounce to a gallon of water) and soft soap (3 oz. to a gallon of water) was tried and this proved to be highly satisfactory. The herd was divided into two groups. The udders of the cows in Group 1 were disinfected in addition to being thoroughly washed. Samples of the bulk milk were taken from each group on eight separate occasions and examined for the presence of coliform organisms. The results are as follows:

Table 5.
The Results of the Examination of Samples of Milk taken from Cows.
(a) With udders disinfected; (b) not disinfected.

Number of Sample	Coliform Organisms	
	Group I (disinfected) c. c.	Group II (not disinfected) c. c.
1	— 10	+ 1/10
2	— 10	+ 10
3	— 10	+ 10
4	+ 1/10	+ 1/100
5	+ 1	+ 1/100
6	— 10	+ 1
7	— 10	+ 1/100
8	+ 1/10	+ 1/10

It will be seen from these results that with three exceptions the samples taken from cows in Group I were free from coliform organisms, whilst every sample from the cows in Group II showed contamination. The disinfecting of the outside of the udder, therefore, was to a great extent successful in overcoming the contamination.

The presence of Coliform organisms in Samples Nos. 4, 5 and 8 in Group I is probably due to contamination of the milk by way of the teat canal.

In all these sixteen samples the total bacterial count was in no case greater than 2,000 per cubic centimeter.

From a review of the literature it appears that B. lactis aerogenes is widely distributed in nature and is not uncommon in milk. The source of B. lactis aerogenes appears to be soil, water and dust, etc., not recently contaminated with faeces, and it is probable that milk becomes infected from one or other of these sources. In the case investigated and described in this paper it would appear that B. lactis aerogenes was gaining entrance to the milk in two ways, namely from the outside of the udder and also from an intermittent infection through the teat canal. Due to the capsulated nature of the organism, ordinary methods of washing did not appear to remove them from the udder, and consequently a mild disinfectant was found necessary. The rejection of the normal amount of fore-milk did not appear to be sufficient to overcome the contamination of the milk in the sinus.

Part 2.

(b) Is the presence of the organism in milk deleterious from a dietetic aspect?

There is little information in the literature on this point. However, a close parallel may be drawn with the presence of aerogenes organisms in water. Gray (8) states with reference to aerogenes in water that "little

danger appears to accrue from the ingestion of B. aerogenes even in large numbers". Moreover, Gray states that "A preponderance of B. aerogenes over B. coli in a water supply may for practical purposes be regarded as an indication of freedom on the part of water from pathogenic organisms including B. typhosus and B. parathyphosus B". Since the courses of contamination of water and of milk with coliform organisms are fundamentally the same, namely either from manure or from soil and dust — contamination of milk with sewage is, of course, extremely rare — these conclusions regarding water may be applied equally to milk, namely that the presence of B. aerogenes is salutary rather than otherwise.

Part 3.

(c) Can the present presumptive B. coli test be modified so as to distinguish between B. aerogenes and B. coli communis?

The Milk (Special Designations) Order states that in graded milk "coliform organisms shall not be present in specified dilutions". By the phrase "coliform organisms" is understood true B. coli, i. e. B. coli communis, since this organism indicates contamination of the milk with faeces.

The importance and seriousness of the faecal contamination of milk cannot be over-estimated. In fact Stenhouse Williams and Hoy (16) and others have gone so far as to show that faeces is an important source of B. tuberculosis in milk.

The test for coliform organisms in milk as now carried out presumes, by the production of acid and gas in a lactose bile salt medium, that organisms of the B. coli group are present. The test is simply a generic one, and does not differentiate between those organisms which resemble B. aerogenes and those which are indistinguishable from B. coli communis. Both ferment lactose with the production of acid and gas.

From what has been said with regard to the difference in the significance of the presence of these organisms, and the fact that samples of milk must often be erroneously condemned as being contaminated with faeces, it is imperative that a differentiation be made between B. coli communis on the one hand and B. aerogenes on the other.

Since the various strains of coliform organisms which ferment lactose are so numerous and the differences between the strains so small, to draw any definite line of demarkation between the organisms based on their biochemical properties and reactions is well nigh impossible. Moreover, the difficulty is increased, not only by the fact that in some cases there is inconsistency of character, but that — and especially is this so with regard to the fermentation of sugar and the production of indol — different workers are themselves not agreed as to what characters of the organisms are essential and what are merely of secondary importance. Compare MacConkey's classification (5) with that of Winslow and Walker (17), Bergey and Deehan (18), Clemesha (19), Kligler (20), Levine (21), Schobl and Ramerez (15), Bardsley (22), Koser and Galt (23), Holman and Gonzales (24), Thompson (26) and Greer (25). There is, however, a consensus of opinion amongst some workers [Gurney Dixon (27), Gaffney (28) and Allen (8)], that in applied bacterio-

logy a recognition of the products of glucose metabolism is the most diagnostic.

Some workers attach much importance to the production of indol by certain coliform organisms. Indol, however, is not produced in milk or other culture media containing lactose or glucose. This does not appear to be due to the increased hydrogen-ion concentration resulting from the fermentation of the sugar. Raistrick and Clark (33) suggest that the inhibitive effect of the carbohydrate on indol production may be due to the organism utalising the carbohydrate in preference to the side chain of the tryptophane. Frieber (34), however, suggests that indol-acetic acid may be formed and from this indol is not produced.

Preliminary experiments with B. coli communis and B. lactis aerogenes showed that when these organisms were growing together in peptone water, indol was formed. On the other hand, when growing together in saccharose peptone water (0.5 per cent sugar) indol production was absent. B. coli communis growing alone in saccharose peptone water forms indol. This suggests that B. aerogenes splits the saccharose into glucose which is used by B. coli communis in preference to the side chain of tryptophane.

Further experiments showed that when a vigorous peptonising organism such as B. subtilis was growing with B. coli communis in peptone water the amount of indol produced was considerably increased, probably due to an increase in the amount of tryptophane. On the other hand, the presence of lactose or glucose in the medium prevented the production of indol.

These experiments appear to support the theory of Raistrick and Clark.

It may be concluded, therefore, that indol is not produced in milk by B. coli communis due to the presence of lactose.

In this work the lactose fermenting coliforms have been divided into three groups according to the following criteria which form a simple and ready means of differentiating between those of faecal and non-faecal origin.

Group 1. Typified by B. coli communis (Escherich).

Gram	Lactose	V. P.	M. R.	Koser
—	+	—	+	—

Group 2. Typified by B. lactis aerogenes.

Gram	Lactose	V. P.	M. R.	Koser
—	+	+	—	+

Group 3. Organisms which do not give typical reactions of either Group 1 or 2 (probably members of the Citrobacter group).

As defined by these criteria, each of the groups contains organisms exhibiting widely differing fermentative characters. Group 1 organisms are considered to be of faecal origin, and Group 2 of non-faecal origin. Group 3 organisms, according to Koser (29) are probably of non-faecal origin, although Gray (8) is not prepared to agree that such is necessarily the case.

In the routine examination of milk any test which is to be of value should be simple and easily carried out. The isolation of specific organisms and a determination of their characters, when in pure culture, involves too much time and work. Some simple modification of the presumptive B.

coli test, which would permit only of the growth of either B. coli communis or B. lactis aerogenes, would therefore be of value. The work of Browning, Gulbransen, Mackie, Smith and Gilmour (30) on the antigenic action of Telluric acid and Brilliant Green appears to suggest a possible method. Browning, Mackie and Smith (30) found Telluric acid to possess the remarkable property of acting most strongly on those varieties of the coli group which resemble B. aerogenes and that such organisms as B. coli communis, B. vesiculosis and B. neapolitanus were unaffected. Moreover, those organisms which were most susceptible to Telluric acid were the most resistant to the aniline dye Brilliant Green.

A series of experiments was set up, therefore, to determine:

(a) If any correlation could be established between the V. P., M. R., and Koser Tests and the resistance of the organisms to different concentrations of Telluric acid and Brilliant Green in Bile salt solution.

(b) To determine the most suitable concentration of Telluric acid which would prevent the growth of B. lactis aerogenes, yet cause the minimum inhibition of B. coli communis when growing in mixed culture.

(c) To determine if the results obtained from these experiments could be applied to the routine examination of milk.

(a) Can a correlation be established between the V. P., M. R., and Koser tests, and the resistance of an organism to different concentrations of Telluric acid and Brilliant Green in Bile Salt solution?

In this experiment 30 strains of lactose fermenting coliform organisms were tested — 12 of which had the diagnostic characters of Group 1 (V. P. and Koser negative and M. R. positive) while 10 conformed to the characters of Group 2. Eight strains did not give typical V. P., M. R. or Koser reactions of either group and were, therefore, classified in Group 3. In this work the M. R., V. P. and Koser tests were carried out in accordance with the modifications suggested by Wilson (31) and Chen and Rettger (32); the M. R. tubes being incubated for 5 days and V. P. tests made at the end of 3 and 5 days.

The Telluric acid and Brilliant Green media were prepared as follows:

A solution of MacConkeys lactose Bile Salt solution of pH 6.8 and containing 1.0 per cent Andrade's indicator was prepared. This was divided into six portions. To five of the portions the following amounts of 1.0 per cent solution of Telluric acid was added per 1000 c. c. of medium.

Lot 1	0.8 c. c.
,, 2	1.0 ,,
,, 3	1.3 ,,
,, 4	1.5 ,,
,, 5	2.0 ,,

In the sixth portion 0.6 c. c. of a dilution of 1 in 1,000 Brilliant Green was added per 100 c. c. of medium.

The media were steamed for 30 minutes on each of 3 successive days.

In order to obtain the most satisfactory results each medium was only lightly inoculated with the organism. A very small amount of a 24 hour agar culture of the strain, therefore, was thoroughly mixed up with 9 c. c. of sterile saline, thus giving a solution containing about 1 million organisms per c. c., and this was used to inoculate the bile salt antiseptic solution.

Three tubes of each dilution of the antiseptic solution was prepared for each strain. The inoculated tubes were incubated for 48 hours at 37° C.

The following results were obtained:

Table 7.
Growth of Coliform Organisms in presence of Telluric Acid & Brilliant Green.

No. of culture		Telluric acid					Brilliant Green
		0.8 c. c.	1.0 c. c.	1.3 c. c.	1.5 c. c.	2.0 c. c.	0.6 c. c.
Group 1 18		+	+	+	+	+	—
6		+	+	+	—	—	+
17		+	+	+	+	+	—
20		+	+	+	+	+	—
19		+	+	+	+	+	—
33		+	+	+	+	+	—
35		+	+	+	+	+	+
39		+	+	+	+	+	—
42		+	+	+	+	+	—
11		+	+	+	+	+	—
13		+	+	+	+	+	—
Group 2 3		—	—	—	—	—	+
4		+	+	+	+	+	+
12		—	—	—	—	—	—
14		+	—	—	—	—	+
15		+	—	—	—	—	+
32		—	—	—	—	—	+
28		—	—	—	—	—	+
16		—	—	—	—	—	+
30		+	+	—	—	—	+
44		+	—	—	—	—	+
	K[1])						
Group 3 7	+	+	+	+	—	—	+
10	—	—	—	—	—	—	—
5	+	+	+	+	+	+	+
1	—	—	—	—	—	—	—
9	+	+	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+	+	+
38	+	+	+	—	—	—	+
27	+	+	+	—	—	—	+

[1]) Koser's Test.

From these results it will be seen that in Group 1 all of the cultures, with the exception of two, namely Nos. 6 and 35, grew in all of the concentrations of telluric acid and failed to grow in the presence of brilliant green. A further examination of the two cultures — Nos. 6 and 35 — showed that they did not produce indol in peptone water.

In Group 2, five strains, Nos. 4, 14, 15, 30 and 44, grew in the presence of "0.8 c. c." telluric acid, two strains, Nos. 4 and 30, grew in the presence of "1.0 c. c." of telluric acid, whilst one strain, No. 4, grew in all the different concentrations of the acid and also in the presence of Brilliant Green. The lowest concentration of telluric acid — "0.8 c. c." — did not, therefore, completely inhibit growth. One strain, No. 12, failed to grow in either the telluric acid or the Brilliant Green. The anomalous behaviour of strain No. 4 may possibly be explained by the fact that it has a particularly thick capsule which may have exerted some protective in-

fluence on the organism. A concentration of telluric acid, therefore, greater than "1.0 c. c." is necessary to inhibit growth of Group 2 organisms.

In Group 3 all of the cultures which grew in 1.3 c. c. telluric acid, and also in brilliant green, were Koser positive. Those cultures which were Koser negative did not grow in either telluric acid or Brilliant Green.

Sufficient work as yet has not been done to draw definite conclusions, but from these results it would appear that Group 1 organisms were generally T. A. positive and B. G. negative, and that Group 2 organisms were generally T. A. negative and B. G. positive. Group 3 organisms were more often B. G. positive, and since they were also Koser positive they are probably more nearly related to those in Group 2, i. e. they are probably of non-faecal origin.

(b) To determine the most suitable concentration of Telluric Acid which would prevent the growth of B. lactis aerogenes, yet cause the minimum inhibition of B. coli communis, when growing in mixed culture.

For the first experiment a culture of B. coli communis which showed typical characters was chosen. A small amount of a 24 hour culture of the strain was added to 100 c. c. of sterile saline and thoroughly mixed. From this was made dilutions up to ten millions in multiples of ten. One c. c. from each dilution was added to a tube of ordinary lactose bile salt and one c. c. to each tube of "1 c. c.", "1.3 c. c.", and "1.5 c. c." telluric acid bile salt solution. The test was carried out in triplicate, and the tubes were incubated for 48 hours at 37° C.

The results of the experiment showed that a "1.5 c. c." concentration of telluric acid produced a definite inhibition of the growth of the organism as compared with the ordinary bile salt solution. The production of acid and gas was delayed in the "1.3 c. c." and "1.5 c. c." telluric acid tubes during the first 24 hours incubation. No appreciable inhibition took place in the "1 c. c." T. A. tube.

The result of the experiment is given in the following table:

Table 8.

Ordinary lactose bile salt solution								Telluric Acid bile salt solution							
Dilutions	1	2	3	4	5	6	7	Dilutions	1	2	3	4	5	6	7
Concentration "1 c. c."															
A	+	+	+	+	+	+	—	A	+	+	+	+	+	—	—
B	+	+	+	+	+	+	—	B	+	+	+	+	+	+	—
C	+	+	+	+	+	+	—	C	+	+	+	+	+	+	—
Concentration "1.3 c. c."															
								A	+	+	+	+	+	+	—
								B	+	+	+	+	+	—	—
								C	+	+	+	+	+	—	—
Concentration "1.5 c. c."															
								A	+	+	+	+	—	—	—
								B	+	+	+	+	+	—	—
								C	+	+	+	+	—	—	—

This experiment was repeated using a pure culture of B. lactis aerogenes and a "1.3 c. c." concentration of T. A. B. S. S. as the medium. It was found that growth took place in the first dilution only and that, therefore, such a concentration definitely inhibited growth of the organisms except when the numbers were excessively high.

It may be concluded from these experiments that B. coli communis is sensitive to the presence of telluric acid in concentrations greater than "1.3 c. c.", and that a concentration of "1.5 c. c." causes some inhibition of the rate of growth of the organism. With regard to B. lactis aerogenes, on the other hand, a concentration of "1.3 c. c." telluric acid prevents the growth of the organism, except when the number of organisms is very large.

In the case of Brilliant Green, a concentration of "0.6 c. c." was found to prevent completely the growth of B. coli communis but did not appear to inhibit to any appreciable extent the growth of B. lactis aerogenes.

The critical concentration of Telluric acid for the differentiation between B. coli communis and B. lactis aerogenes appears, therefore, to be about "1.3 c. c." and of Brilliant Green "0.6 c. c.".

(c) To determine if the results obtained from these experiments could be applied to the routine examination of milk.

Twenty samples of milk were examined, the examination of each sample being carried out as follows:

A series of four dilutions of milk was made, in multiples of ten, the final dilution being 1 in 10,000 and the total number of bacteria determined in the usual way. The coliform organisms were estimated by adding 1 c. c. of each dilution to (1) a tube containing ordinary lactose bile salt solution; (2) to a tube containing lactose bile salt solution and telluric acid of strength "1.3 c. c."; (3) to a tube containing lactose bile salt solution and brilliant green of strength "0.6 c. c.". Each series of bile salt tubes were made in duplicate, and incubated for 48 hours at 37° C. At the end of this period the results were noted. A loopful of medium was taken from each of the highest dilutions which showed acid and gas, and streaked over the surface of dried Bile Salt Agar slopes. Isolated colonies were picked off the slopes after 24 hours incubation, cultured, purified, stained and inoculated for the V. P., M. R., and Koser tests.

The results are given in Table 9.

From these results it appears that by the addition of Brilliant Green to the medium the Group 1 coliforms (i. e. the true B. coli) can be prevented almost entirely from growing and consequently an indication of the numbers of aerogenes organisms obtained. The addition of telluric acid to the bile salt solution is not as successful as the Brilliant Green. In a few cases colonies of B. aerogenes were found on the slopes made from the T. A. B. S. S. tubes. Nevertheless, a general indication can be obtained of the extent of the true B. coli contamination. Gray (8) in reference to the significance of B. aerogenes in water, emphasises the point that it is the ratio of true B. coli to B. aerogenes which is important. The predominance of true B. coli over B. aerogenes indicates faecal contamination and the preponderance of B. aerogenes over true B. coli suggests contamination with material of a non faecal

Table 9.
Results of the Examination of Samples of Milk by the use of a Telluric and a Brilliant Green Medium.

Sample No.	Total No. of Organisms per c. c.	Coliform organisms in Ordinary Bile Salt Solution c. c.	Coliform organisms in Telluric Bile Salt Solution c. c.	Coliform organisms in B. G.[1]) Bile Salt Solution c. c.	Ord. B. S. S. Organisms present in Group 1	2	3	T. A. B. S. S.[2]) Organisms present in Group 1	2	3	B. G. B. S. S.[3]) Organisms present in Group 1	2	3	Predominating Coliform Organism
1	24,400	+ 1/1000	— 1	+ 1/1000	—	4	1	—	—	—	—	5	—	B. aerogenes
2	1,070	— 1	— 1	— 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	58,000	— 1	— 1	+ 1	—	2	—	1	—	—	—	3	—	B. aerogenes
4	17,800	+ 1/10	— 1	+ 1/10	1	4	—	—	—	—	—	4	1	B. aerogenes
5	870	+ 1/10	— 1	+ 1/10	—	5	—	—	—	—	—	5	—	B. aerogenes
6	450,000	+ 1/1000	+ 1/10	+ 1/100	3	1	1	4	—	—	—	3	2	B. aerogenes
7	105,000	+ 1/100	— 1	+ 1/10	1	2	—	2	—	—	—	2	1	B. aerogenes
8	210,000	+ 1/1000	+ 1/100	+ 1/10	2	2	1	4	1	1	—	3	—	B. coli
9	9,000	— 1	— 1	— 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	+ 1/1000	+ 1/1000	+ 1/100	—	—	3	3	—	—	—	—	2	B. coli
11	600,000	+ 1/10	+ 1	+ 1	1	1	—	1	1	—	—	2	—	Probably equal
12	2,100	+ 1/100	— 1	+ 1/10	—	3	1	—	3	—	—	2	1	B. aerogenes
13	1000,000	+ 1/10000	+ 1/1000	+ 1/1000	2	2	—	1	1	1	—	1	—	B. coli
14	595,000	+ 1/1000	+ 1/100	+ 1/100	3	1	1	3	—	—	—	2	1	B. coli
15	—	+ 1/10	+ 1/10	+ 1/100	—	2	4	—	—	1	—	1	3	B. aerogenes
16	—	+ 1/100	+ 1	+ 1/100	—	3	2	—	—	2	—	4	1	B. aerogenes
17	750,000	+ 1	+ 1	+ 1	2	2	—	3	—	—	—	2	—	B. coli
18	1000,000	— 1	— 1	— 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	620,000	+ 1/10000	+ 1/1000	+ 1/1000	3	4	2	3	1	5	—	5	2	Probably equal
20	2000,000	+ 1/10000	+ 1/10000	+ 1/1000	5	4	—	4	1	—	—	4	1	B. coli

[1]) Brilliant Green Bile Salt Solution.
[2]) Telluric Acid Bile Salt Solution.
[3]) Brilliant Green Bile Salt Solution.

nature. As to whether such a conclusion can be applied to milk which is 24 hours old is doubtful and it a matter which will require further investigation. It may be — and indeed, the results given in Table 9 rather appear to suggest — that in milk held at room temperature B. aerogenes grows very much more rapidly than the true B. coli, and consequently by 24 or 27 hours the B. aerogenes organisms are predominant even though the primary source of contamination of the milk with coliform organisms is faecal material.

Summary and Conclusions.

1. A review of the literature regarding the significance of B. coli communis and B. lactis aerogenes has been made. Both organisms are found to be widely distributed in nature, and have been shown to be present in samples of milk in about equal numbers. The true B. coli is the predominant coliform organism in fresh faeces and gains entrance to milk from this source. The B. aerogenes, on the other hand, is the predominant coliform in dust of grains, in soil and water, and it is this material which is probably responsible for the presence of these organisms in samples of milk.

2. In the case investigated and described in this paper it would appear that B. lactis aerogenes was gaining entrance to the milk in two ways, namely, from the outside of the udder and, also, from an intermittent infection through the teat canal.

Due to the capsulated nature of the organism ordinary methods of washing did not appear to remove them from the udder, and consequently a mild disinfectant was found necessary. The rejection of the normal amount of fore-milk did not appear to be sufficient to overcome the contamination of the milk.

3. B. lactis aerogenes does not appear, at least when present in water, to be deleterious from a dietetic aspect; little danger apparently accruing from the injection of this organism even in large numbers.

4. Indol is not produced in milk by B. coli communis, probably due to the organism utalising the lactose of the milk in preference to the side chain of the tryptophane.

5. From a review of the work carried out on B. aerogenes it appears that the presumptive B. coli test should be modified in order that an indication may be obtained of the extent to which true B. coli and B. aerogenes are present respectively in milk. The difficulties of producing any such modification are many, primarily because the different strains of coliform organisms which ferment lactose are so numerous and the differences between the strains so small. The use of Telluric acid and Brilliant Green, however, appear to be helpful. The true B. coli (i. e. those coliforms which are V. P. and Koser negative and M. R. positive) can resist Telluric acid in certain concentrations, but are inhibited by Brilliant Green, whereas those organisms which can tolerate Brilliant Green (i. e. B. aerogenes) can not resist Telluric acid.

6. A concentration of Telluric acid in Bile Salt solution of 0.0013% appears to produce the minimum inhibition of true coli, coincident with the prevention of the growth of B. aerogenes, provided the numbers of the latter organisms are no excessive.

A modification of the presumptive test, using telluric acid and brilliant green, has been applied to the routine examination of samples of milk and has been found to be fairly successful as a rapid method of determining the extent to which B. coli and B. aerogenes, respectively, are present. There appear to be other factors involved all concerned chiefly with the rate of growth of the two organisms, and these factors will require to be investigated before any definite conclusions can be drawn from the results obtained.

My thanks are due to Mr. J. McGregor, B. Sc., for help and suggestions during the course of this work.

References.

1. Ministry of Health, London. Memo 139, Foods. — 2. Rogers, L. A., Clark, W. M., and Davis, B. J., J. Inf. Dis. Vol. 14. 1914. p. 411. — 3. Chalmers, C. H., J. Hyg. Vol. 27. 1928. p. 295. — 4. Rogers, L. A., Clark, W. M., and Evans, A. C., J. Inf. Dis. Vol. 15. 1914. p. 99; Vol. 17. 1915. p. 137. — 5. MacConkey, A., J. Hyg. Vol. 9. 1909. p. 86. — 6. Winslow, C. E. A., and Cohen, B., J. Inf. Dis. Vol. 23. 1918. p. 90. — 7. Cruickshank, J., Unpublished communications (see ref. 8). 1930. — 8. Allen Gray, J. D., J. Hyg. Vol. 32. 1932. p. 132. — 9. Jordan, E. O., J. Inf. Dis. Vol. 38. 1926. p. 306. — 10. Laurent, Ann. Inst. Pasteur. Vol. 13. 1899. p. 5. — 11. Klein, E., and Houston, A. G., 29th Ann. Rept. Local Govt. Board. 1899. p. 593. — 12. Prescott, S. C., Science. Vol. 15. 1902. p. 363. — 13. Jordan, E. O., J. Hyg. Vol. 3. 1903. p. 1. — 14. Houston, A., Brit. Med. Jour. Vol. 2. 1912. p. 704. — 15. Schobl, O., and Ramirez, J., Bull. Hyg. Vol. 1. 1925/1926. p. 193 (abstr.). — 16. Stenhouse Williams, R., and Hoy, W. A., J. Hyg. Vol. 27. 1927. p. 37. — 17. Winslow, C. E. A., and Walker, L. J., Science. N. S. Vol. 26. 1907. p. 797. — 18. Bergey, D. H., and Deehan, S. J., J. Med. Res. Vol. 6. 1908. p. 211. — 19. Clemesha, W. M., J. Hyg. Vol. 12. 1912. p. 463. — 20. Kligler, I. T., J. Inf. Dis. Vol. 15. 1914. p. 187. — 21. Levine, M., J. Inf. Dis. Vol. 28. 1916. p. 358; Ibid. Vol. 23. 1918. p. 43. — 22. Bardsley, D. A. J. Hyg. Vol. 25. 1926. p. 11. — 23. Koser, S. A., and Galt, R. H., J. Bact. Vol. 11. 1926. p. 293. — 24. Holman, W. L., and Gonzales, P. L., J. Bact. Vol. 8. 1923. p. 577. — 25. Greer, F. E., et alia, J. Inf. Dis. Vol. 42. 1928. p. 501. 26. Thompson, B. E., J. Bact. Vol. 11. 1927. p. 209. — 27. Dixon, G., The Transmutation of Bacteria. Camb. Univ. Press. 1919. — 28. Burke-Gaffney, H. J. O'D, J. Hyg. Vol. 32. 1932. p. 85. — 29. Koser, S. A., J. Bact. Vol. 8. 1923. p. 493; Ibid. Vol. 9. 1924. p. 59; J. Inf. Dis. Vol. 35. 1924. p. 14; Ibid. Vol. 35 1924. p. 315; J. Bact. Vol. 11. 1926. p. 77. — 30. Browning, C. H., Applied Bacteriology. 1918. Oxford Med. Pub. — 31. Wilson, W. J., The Colon Group and Similar Bacteria. (Med. Res. Council, System of Bact. Vol. 4. 1929. p. 254. — 32. Chen, G. C., and Rettger, L. F., J. Bact. Vol. 5. 1920. p. 253. — 33. Raistrick, H., and Clark, A. B., J. of Biochem. Vol. 15. 1921. p. 76. — 34. Frieber, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 87. 1921. S. 254.

Rotenon und seine Bedeutung für den Pflanzenschutz.

Von Dr. H. Krieg.

Die Derriswurzel, die das wirksame Rotenon enthält, ist den Chinesen schon lange als Bekämpfungsmittel gegen Raupen und andere Schädlinge bekannt[1]). Erst die Erfolge der Holländer in Niederländisch-Indien mit Derris gegen Tabakschädlinge[2]) haben den Pflanzenschutz der Welt, besonders der U. S. A. und damit auch Europa auf dieses Präparat hingewiesen.

Das bedeutsame an Rotenon liegt in seiner ganz außerordentlichen Giftigkeit für Kaltblüter und besonders für eine ganze Reihe Insekten. Seit den ältesten Zeiten verwenden die Eingeborenen der Tropen Pflanzen, die Rotenon enthalten, als Fischgift, und schon kleinste Mengen Rotenon wie Konzentrationen 1 : 5 000 000 genügen, um größere Fische abzutöten[1]). Seine insektizide Wirkung erhellt besonders aus den amerikanischen Arbeiten von Darley, Davidson, Ginsburg, Richardson u. a. [3])[4])[5])[6]). So war Rotenon als Kontaktgift in einer Konzentration von 1 : 100 000 wirksamer als Nikotin 1 : 10 000 und als Pyrethrin 1 : 74 800 gegen die Blattläuse *Rhopalosiphum pseudobrassicae* und *Aphis spiricola*. Von *Aphis pomi* Degeer tötete Rotenon in Konzentration 1 : 105 600 73% der Blattläuse, während Pyrethrine in der Konzentration 1 : 88 000 nur eine Abtötung von 46,2% erzielten. Rotenon 1 : 200 000 übte gegen *Aphis rumicis* die gleiche Wirkung aus wie die 15fache Dosis von Nikotin. Staubmittel mit einem Gehalt von 1% Rotenon töten große Raupen von *Pieris rapae* und halberwachsene Larven von *Epilachna corrupta*. Bei roter Spinne übertraf 0,02% Rotenon 0,02% Pyrethrin und 0,66% Nikotin. Seine Wirkung als Magengift ist ebenfalls sehr stark. So fanden Shepard und Campell[7]), daß bei lebenden Seidenraupen pro Gramm Körpergewicht 0,03 mg Rotenon als tödliche Dosis genügten, das ist der 30. Teil der Menge, die man bei Bleiarsenat benötigt. Auch Turner[8]) bestätigt die hohe Giftigkeit des Rotenon als Magengift für Insekten durch Versuche gegen Kartoffelkäfer. Jedenfalls steht heute eindeutig fest: Rotenon ist ein hochwertiges Insektizid, es übertrifft in seiner Wirkung Nikotin, Arsen und Fluor

[1]) Houben, I., Über insektentötende Pflanzenstoffe. I. Die Derrisgiftstoffe. (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 8. 1932. Heft 7. S. 83—88.)

[2]) Fulmek, L., Technik der Bladluizenbestrijding met Akar Toeba. (Deli-Proefstation Medan. 1925. Vlugschr. Nr. 33.)

[3]) Darley, M. M., Some comparative tests with rotenone, nicotine and pyrethrum. (Journ. econ. Entomol., Geneva N. Y. Bd. 24. Febr. 1931. No. 1. S. 111—115.)

[4]) Davidson, W. M., Rotenon as a contact insecticide. (Journ. econ. Entomol. Vol. 23. October 1930. No. 5. p. 868—874.)

[5]) Ginsburg, I. M., A comparison between rotenone and pyrethrine as contact insecticides. (Journ. econ. Entomol. Vol. 25. Aug. 1932. No. 4. p. 918—922.)

[6]) Richardson, H. H., A preliminary study of the insecticidal efficiency of the pyrethrins, nicotine and rotenone against the greenhouse redspider mite. (Journ. econ. Entomol. Vol. 25. Juni 1932. No. 6. p. 592—599.)

[7]) Shepard, H. H., and Campell, F. L., The relative toxicity of rotenone and some related compounds as stomach insecticides. (Journ. econ. Entomol. Vol. 25. Febr. 1932. No. 1. p. 142—144.)

[8]) Turner, N., Notes on Rotenone as an insecticide. (Journ. econ. Entomol. Vol. 25. Dec. 1932. No. 6. p. 1228—1237.)

um ein Vielfaches, ist auch in vielen Fällen den Pyrethrinen überlegen. Es eignet sich vorzüglich zur Bekämpfung von Blattläusen, Blasenfüßen, Blattflöhen und zahlreichen Käferlarven und Raupen. Für Bienen erwies sich Rotenon weniger schädlich als Pyrethrum [5]).

Die Wirkung des Rotenon ist im Gegensatz zu den Pyrethrinen, die heute als ungiftige Pflanzenschutzmittel schon vielfach Verwendung finden, eine langsamere, dafür aber um so nachhaltigere. Die mit Rotenon behandelten Raupen fressen kaum, sie erschlaffen allmählich und gehen langsam ein. Bei Pyrethrinen zeigen die gleichen Raupen nach wenigen Minuten heftigste Reaktionen, die sich in Umsichschlagen, konvulstischen Bewegungen, Ausspeien des Mageninhaltes und Vorstülpen des Enddarmes äußern. Es kann jedoch vorkommen, daß sich die Tiere trotz stärkster Reaktion wieder erholen, die Pflanzen, selbst Bäume, von denen sie herabfielen, wieder erklimmen und ihren Fraß fortsetzen[9]). Bei Rotenon hingegen führt die einmal aufgetretene Wirkung unbedingt zum Tode.

Trotz dieser hohen Giftigkeit für Insekten ist Rotenon für Warmblüter nur wenig gefährlich. Immerhin ist auch hier Vorsicht am Platze, da beim Arbeiten mit rotenonhaltigem Staub eine gewisse Taubheit von Zunge und Gaumen festgestellt werden konnte. Die Gefährlichkeit des Rotenon für Menschen und Säugetiere steht jedoch in keinem Verhältnis zu der von Arsen und Nikotin. Vor allem ist zu beachten, daß mit diesem Mittel behandelte Früchte und Gemüse schon nach 2 Tagen unbedenklich genossen werden können, da sich das Rotenon im Freien zersetzt und seine Giftigkeit verliert.

Ein weiterer Vorzug ist ferner die Unschädlichkeit des Rotenon für empfindliche Pflanzen und Pflanzenteile. Wer die Pflanzenschutzliteratur beherrscht, wer sich in der Praxis auskennt, weiß, wie häufig gerade heute noch Beschädigungen und Verbrennungen durch Pflanzenschutzmittel verursacht werden. Rotenon greift sogar zarte Blüten nicht an, man kann es also unbedenklich verwenden, sofern man ihm keine nachteiligen Stoffe zufügt.

Bei diesen gewaltigen Vorzügen haben die Pflanzen, die Rotenon enthalten, starke Beachtung gefunden. Angebaut werden heute 2 Pflanzen, und zwar Derris eliptica, eine Liane, in Niederländisch-Indien, den Malayenstaaten, Ostasien und auf den Molukken, und Lonchocarpus Nicou, das Cubé der Peruaner, in Süd- und Mittelamerika. Der Ertrag ist günstig, da die getrockneten Derriswurzeln 0,5—6% im Mittel mindestens 2,5% Rotenon liefern, während die trockenen Pyrethrumblüten höchstens 1% Pyrethrine enthalten. Die feinen 2jährigen Derriswurzeln sind am gehaltvollsten. Der Hektar liefert bei 2jähriger Ernte ca. 1100 kg trockene Wurzeln. Die Anbaufläche betrug 1932 über 4000 ha. Bei der Cubéwurzel sind die Verhältnisse noch günstiger, da sie 5—10% Rotenon liefert[10])[11]). Der Verbrauch von Rotenon als Pflanzenschutzmittel ist in ständigem Anwachsen begriffen. Auch in Deutschland sind bereits einige Derrispräparate im Handel; bei der diesjährigen Großbekämpfung der Forleule kamen Derrispräparate in größerem Umfange zur Anwendung.

---

[9]) Krieg, H., Erfahrungen bei der letzten Bekämpfung der Forleule. (Forstarchiv. Jahrg. 9. Sept. 1933. Heft 17. S. 275—276.)

[10]) Georgi, C. D. V., and Curtler, E. A., The periodic harvesting of Tuba root. (Malayen Agr. Journ. Vol. 27. Kuala Lumpar Sept. 1929. No. 9. p. 326—334.)

[11]) Roark, R. C., Genuine derris root may contain no rotenone. (Journ. econ. Entomol. Vol. 24. Febr. 1931. No. 1. p. 328—331.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Tanner, F. W., The Microbiology of Foods. VIII + 768 S. Champaign (Twin City Printing Co.), Illinois. 1932.

In 25 Kapiteln wird hier nicht nur die gesamte Nahrungs- und Genußmittelmikrobiologie, Milch und Milchprodukte eingeschlossen, abgehandelt, sondern es wird darüber hinaus auch noch die Mikrobiologie der Mundhöhle und des Magen-Darmtraktus sowie der Luft berücksichtigt. Auch der Nahrungsmittelkonservierung ist weitgehend gedacht. In den letzten Kapiteln werden die gebräuchlichen Methoden zum Nachweis und zur Erkennung der verschiedenen Bakterien und Pilze besprochen und eine kurze Klassifizierung dieser Mikroorganismen, soweit sie für die Nahrungsmittelmikrobiologie in Frage kommen, gegeben. Den Schluß bildet ein Abschnitt über die üblichen und Spezialnährsubstrate.

Das Buch ist zwar vorwiegend auf nordamerikanische Verhältnisse abgestellt, was sich z. B. schon darin zeigt, daß der „Microbiology of Ice Cream" ein ganzes Kapitel (S. 256—272) gewidmet ist, während Milchprodukte wie Kefir, Yoghurt, Kumys, Mazun usw. mit folgenden 2 Sätzen kurz abgetan werden; „Much bacterial work has been done on them. On account of the fact, that they are not used in America, this literature will not be reviewed."

Im übrigen ist das Schrifttum aber sehr weitgehend berücksichtigt. So ist z. B. auf S. 218 das Ergebnis von 51 Untersuchern über die thermalen Tötungszeiten von Mycobacterium tuberculosis in Milch aus den Jahren 1882—1927 tabellarisch zusammengestellt, aus dem trotz starker Verschiedenheiten doch hervorgeht, daß eine 30 Min. lange Erhitzung auf 62—63° C zur Vernichtung dieser pathogenen Organismen genügt.

Die klare, umfassende und verständliche Darstellung sowie die ausführliche Beschreibung aller verwendbaren Methoden werden dem Buche, das Theoretikern wie Praktikern willkommen sein dürfte, die Verbreitung in und außerhalb von Amerika sichern. Stapp.

Behrens, W. U., Mathematische Methoden für Versuchsansteller auf den Gebieten der Naturwissenschaften, Landwirtschaft und Medizin. 137 S. Stuttgart (Verlag E. Ulmer) 1933. Preis brosch. 8.— RM.

Verf. verfolgt mit seinen Ausführungen das Ziel, dem nicht mit dem ganzen methodischen Rüstzeug der Variationsstatistik vertrauten Biologen bei der Auswertung seiner Versuche behilflich zu sein. Einerseits soll der Versuchsansteller davor bewahrt werden, aus seinen Ergebnissen mehr zu schließen, als nach mathematischen Grundsätzen geschlossen werden darf; andererseits soll ihm aber mit den geschilderten Methoden ein Werkzeug an die Hand gegeben werden, mit Hilfe dessen er all das aus den Versuchsergebnissen herauslesen kann, was überhaupt aus ihnen herauszulesen ist.

Da sich das Buch in erster Reihe an den Nicht-Fachmathematiker richtet, wird bei dem Leser auf die Kenntnis der höheren Mathematik verzichtet. Seinen Ausführungen stellt der Verf. sogar ein besonderes Kapitel „Rechenhilfsmittel" voran, das den Leser mit einigen Kniffen der Rechenkunst bekannt machen soll. Hieraus resultiert selbstverständlich eine gewisse Weitschweifigkeit, die aber im Hinblick auf die Zweckbestimmung des Buches

ruhig in Kauf genommen werden kann. Dagegen muß als Nachteil empfunden werden, daß die Ableitung für manche wichtige Formel fehlt, so daß der Leser die Formel hinnehmen muß, ohne sie richtig „verstanden" zu haben. So wird z. B. die in der Variationsstatistik so bedeutsame Formel zur Berechnung der Standardabweichung wiedergegeben, ohne daß vorher das Prinzip der „Methode der kleinsten Quadrate" erläutert wird. Erst später geht Verf. hierauf ein (vgl. hierzu die geradezu klassisch einfache und klare Begründung der Formel durch Johannsen in seinen „Elementen der exakten Vererbungslehre"). Dessenungeachtet bietet das kleine Werk, insbesondere für den Leser, der mit den Grundlagen der Variationsstatistik schon vertraut ist, wertvolle Anregungen. Gut dargestellt ist das Kapitel „Fehlerfortpflanzung". Wertvoll sind auch die Ausführungen, die vor einer sinnlosen Anwendung korrelationsstatistischer Methoden für die Erklärung kausaler Zusammenhänge warnen. K. O. Müller (Berlin-Dahlem).

Honcamp, F., Die tierischen Abfallstoffe Blutmehl, Fleischmehl, Tierkörpermehl und Waltiermehl in bezug auf ihre Zusammensetzung, Verdaulichkeit und ihren Wert als Futtermittel in der landwirtschaftlichen Nutzviehhaltung. Berlin (Paul Parey) 1932. 154 S. m. 8 Abb. Brosch. 12.— RM.

Die zunehmende Erkenntnis von dem hohen Wert des tierischen Eiweißes auch für die Ernährung der Herbivoren hat zu einer wesentlich weitergehenden Verwertung der Abfallstoffe aus Schlachthöfen und Kadaververnichtungsanstalten geführt. Das sowohl wie gewisse Änderungen des Futtermittelgesetzes haben dem Reichsministerium für Ernährung und Landwirtschaft Veranlassung gegeben, den Verband landwirtschaftlicher Versuchsstationen zu beauftragen, die Futterstoffe tierischer Herkunft hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Verdaulichkeit sowie ihres Wertes als eiweißreiches Beifuttermittel in der landwirtschaftlichen Nutzviehhaltung und insonderheit bei der Mast wachsender Schweine einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

Diese Untersuchung ist nach den verschiedensten Gesichtspunkten durchgeführt worden, die an verschiedenen Stellen vorgenommen worden ist. Bakteriologische, chemische und mikroskopisch - biologische Untersuchungen sind in Rostock und Augustenberg, solche über den Vitamingehalt in Leipzig, über die Verdaulichkeit in Rostock und über den Wert als eiweißreiches Beifuttermehl bei der Mast wachsender Schweine in Kiel, Rostock, Gießen und Breslau ausgeführt worden. Den Einzelberichten geht ein kurzer Überblick über die grundlegenden Gewinnungsverfahren der untersuchten Stoffe voraus, an dessen Schluß Verf. fordert, daß die Futtermittel tierischer Herkunft keinesfalls mehr als 10—12% phosphorsauren Kalk und ebenso Fett enthalten dürfen. Futtermittel, welche dieser Forderung nicht entsprechen, müssen durch eine entsprechende Benennung gekennzeichnet werden.

Aus den Einzelberichten ist hervorzuheben, daß die Fleischfuttermehle, die sich heute im Handel befinden, hinsichtlich des Gehaltes an Rohnährstoffen den früheren sog. Liebigschen Fleischmehlen nachstehen. Der Gehalt beträgt an verdaulichem Eiweiß 46 bzw. 65 kg je 100 kg. Die Verdaulichkeit ist im allgemeinen gleich gut und hoch. Das gilt auch für die Fleischknochenmehle, die aber bis zu 32% phosphorsauren Kalk und infolgedessen nur 37 kg verdauliches Eiweiß enthalten. Mit ihnen sind die Tierkörpermehle, rein als Eiweißfutter betrachtet, als gleichwertig zu bezeichnen. Allerdings scheint hiermit das auf Seite 87 abgegebene Urteil nicht ganz in Einklang zu stehen, was wohl aber nur auf eine Ungenauigkeit in der

Ausdrucksweise zurückzuführen ist. Knochenschrote und Waltierknochenmehle sollten wegen ihres überwiegenden Gehalts an Mineralbestandteilen von vornherein zu den mineralischen Beifuttern gerechnet werden. Der Rohproteingehalt des Blutmehls schwankt zwischen 80 und 90%, die Verdauungskoeffizienten zwischen 62 und 97%. Bei den Walmehlen sind die entsprechenden Zahlen 38—54 bzw. 74—79. Ihr Gehalt an phosphorsaurem Kalk ist meist sehr hoch. Krankheitserregende Mikroorganismen konnten in keinem der untersuchten Futterstoffe gefunden werden. Dagegen ließ der Frischezustand häufig zu wünschen übrig. Die Vitaminuntersuchungen, die sich auf die Vitamine A und D erstreckten, ergaben nur bei einem Fleischmehlpräparat und beim Blutmehl einen guten A-Gehalt, während D sogar nur bei Blutmehl nachzuweisen war, ohne daß aber die antirachitische Wirkung als völlig sicher angesprochen werden kann.

Braun (Berlin-Dahlem).

Lüers, H., Jahresbericht der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München 1932/33. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 679—680, 683—684, 687—688, 692—693.)

Wissenschaftliche Abteilung: H. Fink und F. Berwald: Desinfektionsmittelversuche. Einige neuere Desinfektionsmittel wie Raschit, Chlorxylenol, Chlorthymol, Hexylresorzin, wurden auf ihre keimtötende Kraft gegenüber Brauereiorganismen und ihre Eignung für den Brauereibetrieb geprüft. Obwohl die keimtötende Kraft der untersuchten Mittel hervorragend war und dem Sublimat nahekam, sind sie für die Brauerei entweder wegen ihres zu hohen Preises (Hexylresorzin) oder wegen ihres Geruches nicht verwendbar.

H. Fink und E. Berwald: Versuche über die Transmutation von Penicilliumarten in Hefen. Bei der Fortsetzung früherer Versuche über die Transmutation von Penicilliumarten sollte versucht werden, diese Transmutation zwangsläufig und reproduzierbar herbeizuführen. Dazu wurden die Pilzkonidien den verschiedensten chemischen und physikalischen Einwirkungen und physiologischen Reizen ausgesetzt, worauf man die Weiterentwicklung in verschiedenen Nährlösungen verfolgte. In manchen Fällen traten spontan große Mengen von Hefezellen auf, aber von 1000 Kulturen zeigten nur etwa 20 dieses Phänomen, so daß die Transmutation damit noch nicht als bewiesen gelten kann, obwohl es nicht wahrscheinlich ist, daß es sich dabei um eine Infektion mit Hefe gehandelt hat. Denn bei einem absichtlichen Zusatz von etwa 100 Hefezellen zu Millionen von Penicilliumkonidien dauert es länger, bis Gärung und starkes Hefewachstum auftrat, als bei den seltenen „Umwandlungen". Unter den transmutierten Sporen befand sich auch eine Hefe mit Sporenbildungsvermögen, meist traten sonst kleine, runde, torulaähnliche Zellen auf.

H. Lüers und F. Leiß: Flüchtige Bukettstoffe der Würzegärung. Die neben Alkohol und Kohlensäure in ungeheurer Verdünnung entstehenden flüchtigen Nebenprodukte der Gärung, die sog. Jungbukettstoffe, konnten dadurch gefaßt werden, daß die Gärgase von vielen Tausenden von Hektolitern gärender Würze in einer nach dem Nathansystem arbeitenden Brauerei über Aktivkohle geleitet wurden. Durch Behandlung mit Wasserdampf und anderen Mitteln, durch Fraktionierungs-, Trennungs- und Anreicherungsmethoden konnte man folgende Substanzen nachweisen: von Alkoholen: Äthyl-, Gärungsamyl-, Isobutyl-, n-Propyl-, Isopropylalkohol, höhere Alkohole mit mehr als 5 C-Atomen; Säuren und Ester: Essig-, Propion-, Butter-, Capron- und schweflige Säure, Essigsäureäthyl-, Essigsäureamyl-, Capronsäureamylester; Aldehyde: Acetaldehyd und Furfurol; Schwefelverbindungen: Schwefelwasserstoff und organische Schwefelverbindungen vom Typus des Merkaptans; ferner Ammoniak und Trimethylamin.

H. Lüers und S. Jacobsen: Der Einfluß kieselsäurehaltigen Brauwassers auf die Hefegärung.

H. Fink: Brautechnische Versuche mit Mammutbiospänen im Gär- und Lagerkeller.

H. Fink und E. Berwald: Über die Umwandlung des Cytochromspektrums in Bierhefen.

Über die drei letztgenannten Arbeiten wurde gesondert referiert.

Physiologische Abteilung. Proben von Hefe, Würzen, Jungbieren,

Bieren, Faßgelägern, Filtermassen und Wässern mußten vielfach wegen zu hohen Gehalts an Fremdorganismen beanstandet werden. Auch in Luftproben fand man nicht selten Sarzinen. Ein Grünmalz war an Schwarzspitzigkeit erkrankt, in einer Darrmalzprobe fand sich der braune Getreidekäfer, Tribolium ferrugineum.

Versuche über den Einfluß des Filtermaterials auf die Entwicklung der Sarzina ergaben, daß man durch Auswahl einer geeigneten Filtermassekomposition ein Aufkommen der Sarzina im Filtrat verhindern kann.

Versuche über die Identität einer wilden, im Bier enthaltenen Hefe mit im Wasser auftretenden wilden Hefen ergaben, daß es sich um verschiedene Organismen handelte. Interessanterweise fand man in der Wasserprobe Konidien von Fusarium aquaeductum, von denen man bisher annahm, daß sie nur in künstlichen Kulturen auftreten.

Versuche über die Züchtung verschieden vergärender Hefen aus dem gleichen Ausgangsmaterial. Nach Delbrück sollen sich bei der Gärung zuerst die schwach vergärenden und erst später die hochvergärenden Hefezellen zu Boden setzen. Man fand bei der Prüfung solcher Zellen tatsächlich erhebliche Unterschiede im Vergärungsgrad.

Technische Abteilung. Die Prüfung einer Reihe von entkeimenden Belüftungsanlagen für den Kühlschiff- oder Kühlerraum nach dem Brautechnik-Delbag-Verfahren ergab sehr gute Resultate. Die Filter hielten 100% der Keime der durchgehenden Luft zurück.

Heuß (Berlin).

Allgemeines und Methodisches.

Püschel, J., Die oligodynamische Wirkung als Fehlerquelle beim bakteriologischen Arbeiten. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 1333—1334.)

Die Metallteile der Seitz-Filter (Kupfer mit Silberüberzug) bedingen, namentlich bei viel gebrauchten Apparaten, eine erhebliche oligodynamische Wirkung in den Filtraten. Pathogene Bakterien sind hiergegen empfindlicher als Saprophyten. Es erscheint nicht unmöglich, daß Mißerfolge bei Gewinnung von Phagen und bei der Untersuchung auf filtrierbare Virusarten auf die Benutzung von Seitz-Filtern zurückzuführen sind und daß andererseits bei Prüfungen der Seitz-Filter auf Bakteriendichtigkeit Sterilität vorgetäuscht wird. Rodenkirchen (Duisburg).

Schwarz, Th., Sicherheitspipettensauger für medizinische und technische Zwecke (D.R.P. a). (Med. Welt. Jahrg. 7. 1933. S. 779.)

Der beschriebene Sicherheitspipettensauger (Fabrikation: Chirurgica Heidelberg, Ruff & Ruebelmann) stellt gewissermaßen eine kleine doppelkolbige Pumpe dar, deren Funktion spielend leicht durch eine Mikrometerschraube mit Schiebestange betätigt wird. Der Pumpenkolben ist als durchbohrte Stopfbüchse ausgebildet, die leichten Lauf und größte Dichtigkeit ermöglicht. Durch ein mit Gewinde versehenes Verschlußstück wird eine konische Gummidichtung komprimiert, die ihrerseits die Verwendung von Pipetten verschiedenster Dicke ermöglicht und diese vollständig abdichtet. Dadurch kein Verlust an Flüssigkeit und auch kein Nachtröpfeln. Durch die schon erwähnte Mikrometerschraube können kleinste Flüssigkeitsmengen aufgesaugt und abgelassen werden. Die gewohnte Arbeitsgeschwindigkeit soll mit dem Instrument sogar gesteigert werden können. Außerdem ist einhändiges Arbeiten möglich. Die Pumpe kann mit wenigen Handgriffen zwecks Reinigung und evtl. Sterilisation auseinandergenommen werden.

Rodenkirchen (Duisburg).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Gaffron, H., Über den Stoffwechsel der schwefelfreien Purpurbakterien. (Biochem. Z. Bd. 260. 1933. S. 1—17.)

Die Athiorhodaceen oder schwefelfreien Purpurbakterien unterscheiden sich von den Thiorhodaceen oder roten Schwefelbakterien dadurch, daß sie im Gegensatz zu letzteren kohlenstoffheterotroph sind. Sie gedeihen unter streng anaeroben Bedingungen nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von CO_2 und organischer Substanz. Obwohl sie neben CO_2 noch organische Substanz benötigen, ist ihr Wachstum vom Licht abhängig. Der bisher noch wenig geklärte Mechanismus dieses Assimilationsvorganges wurde genauer untersucht. Die mit Rohkulturen durchgeführten Versuche wurden später an Hand von Reinkulturen in einigen Fällen nachgeprüft. Die Messung und Berechnung des Stoffwechsels geschah nach der manometrischen Methode von O. Warburg. Verf. untersuchte die Kohlensäureassimilation belichteter Kulturen in Gegenwart von Kalium- und Natriumsalzen verschiedener aliphatischer Karbonsäuren. Die Höhe der Assimilation war abhängig von der Zahl der im Molekül vorhandenen Methylengruppen. Auch einige Dikarbonsäuren und ungesättigte Säuren wurden zur Untersuchung herangezogen. Die Kohlensäure wurde reduziert, die organische Substanz entsprechend oxydiert. Bei Anwesenheit von Nitrat wurde dieses reduziert. Der Endwert der absorbierten Kohlensäure verringerte sich dadurch. Irgendwelche definierten Stoffwechselprodukte konnten nicht isoliert werden. Sauerstoffentwicklung war nicht zu bemerken. Reaktion der Nährflüssigkeit, Konzentration des Mediums und physiologischer Zustand der Bakterien beeinflußten den Assimilationsvorgang. KHS und NaHS wurden zu Schwefelsäure oxydiert. R. Koch (Berlin).

Fink, H. und Kühles, R., Beiträge zur Methylenblaufärbung der Hefezellen und Studien über die Permeabilität der Hefezellmembran. IV. Teil. Eine verbesserte Färbeflüssigkeit zur Erkennung von toten Hefezellen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 185.)

Die neue Färbeflüssigkeit, mit der man die beste Übereinstimmung mit den nach den biologischen Methoden gefundenen Prozentsätzen an toten Hefezellen erhält, enthält wie die bisherige Methylenblau in einer Verdünnung von 1 : 10 000, sie hat einen ph von 4,6, erzeugt durch Phosphatpuffergemisch. Zu ihrer Herstellung werden gleiche Volumina von Methylenblaulösung (Methylenblau Grübler med. pur.) 1 : 5000 und Phosphatgemisch (0,25 ccm m/5 sekundär. Natriumphosphat und 99,75 ccm m/5 primär. Kaliumphosphat) gemischt. Bei Verwendung dieser gepufferten Farbstofflösung ändert sich auch die Zahl der gefärbten Zellen im Verlauf der immerhin einige Minuten dauernden Auszählung nur wenig, während bei der reinen Methylenblaulösung die Zahl der anfärbbaren Zellen nach längerer Einwirkung beträchtlich zunehmen kann. Sehr hoch ist auch die Beständigkeit dieser Lösung gegen Auflockerung des Farbstoffs und gegen Pilzwachstum, lediglich allzustarke Belichtung muß vermieden werden.

Heuß (Berlin).

Karczag, L. und Hanák, M., Über die Beeinflussung der Gärung durch Körperflüssigkeiten. (Biochem. Z. Bd. 260. 1933. S. 39—43.)

Die Vergärung des Traubenzuckers durch Hefe sowie die Wasserstoffgärung der Brenztraubensäure durch Bact. coli werden durch Blutserum nicht beeinflußt. Dagegen wird die Wasserstoffgärung des Traubenzuckers durch Bact. coli durch Serum erheblich gehemmt. Die Hemmungswirkung ist wahrscheinlich an die Albuminfraktion des Eiweiß gebunden, da u. a. die Serumultrafiltrate ohne Wirkung auf die Gärung bleiben. Zusammenhänge zwischen Hemmungswirkung und bestimmten Krankheiten sind nicht auffindbar. R. Koch (Berlin).

Fink, H. und Berwald, E., Über die Umwandlung des Cytochromspektrums in Bierhefen. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 141—146.)

Bierhefe, deren Cytochromspektrum sich in charakteristischer Weise von dem der luftliebenden Kahmhefe oder der unter Lüftung gewachsenen Bäckerhefe unterscheidet, ließ sich durch fortdauernde Züchtung in großen flachen Petrischalen mit Würze unter Watteverschluß allmählich derart verändern, daß sie das vierbandige Spektrum des Bäckerhefetypus zeigte, wenn auch nicht in gleicher Intensität. Damit sind die Cytochromspektren aller Kulturhefen durch Umzüchtung ineinander verwandelbar. Obergärige und untergärige Hefen verhalten sich bei der Umzüchtung gleich.

R. Koch (Berlin).

Nielsen, N. und Hartelius, V., Untersuchungen über die Wirkung einiger Metalle als Co-Wuchsstoffe. (Biochem. Z. Bd. 259. 1933. S. 340—350.)

Der beim Erwärmen von Zucker mit gewissen organischen Säuren oder deren Ammoniumsalzen entstehende Wuchsstoff B, der die Trockensubstanzproduktion von Aspergillus niger befördert, ist allein nur schwach wirksam. Durch die Anwesenheit von Filtrierpapier wird die wachstumsfördernde Wirkung merklich gesteigert. Das für sich allein unwirksame Filtrierpapier wirkt also als Co-Wuchsstoff. Anscheinend handelt es sich dabei um metallische Bestandteile der Asche. Auch Zink wirkt in ähnlicher Weise wie Filtrierpapierasche, doch wird die Wirkung der Asche anscheinend nicht durch den Zinkgehalt verursacht. Auf biologischem Wege durch Rhizopus suinus erzeugter Wuchsstoff wird durch Filterasche oder Zink in gleicher Weise aktiviert wie der chemisch erzeugte Wuchsstoff.

R. Koch (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Anderson, Edward B., and Meanwell, Leonard J., Studies in the bacteriology of low temperature pasteurisation. I. The significance of heat resisting organisms in raw milk supplies. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1933. p. 213.)

Standard-Agar (Pepton-Fleischextrakt) erwies sich nicht als befriedigendes Medium, zu Vergleichsprüfungen von pasteurisierter und nichtpasteurisierter Milch. Zusatz von 0,5% Milch ergab ein brauchbares Substrat. Eine Beziehung zwischen dem Bakteriengehalt der Milch vor und nach dem Pasteurisieren konnte nicht gefunden werden. Unsterilisierte Geräte erwiesen sich gewöhnlich als die Quelle von hitzebeständigen Organismen.

Ohne Sterilisation der Geräte wurden mehr hitzebeständige Organismen in mit Maschinen gemolkener Milch gefunden als in solcher, die mit der Hand gemolken worden war. Davis (Heidelberg).

Whitehead, H. R., and Cox, G. A., Observations on some factors in the milk of individual cows which modify the growth of lactic streptococci. (Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 951.)

Es wurde oft gefunden, daß die Hemmung der Säurebildung in Milch durch Milchsäurestreptokokken von einer großen Anzahl von Leukozyten (> 5 000 000 pro Kubikzentimeter) begleitet wurde. Diese Milch sah oft normal aus. Durch Erhitzen auf 50° (30 Sek.) wurde die Hemmung aufgehoben. Davis (Heidelberg).

Mattick, A. T. R., Hiscox, E. R., and Christian, M., Biennial reviews of the progress of dairy science. B. Bacteriology and mycology applied to dairying. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1933. p. 285.)

Es wird ein Bericht gegeben über Ergebnisse der milchwirtschaftlichen Bakteriologie von 1930—1932, wobei besprochen werden: 1. Die Methoden der Milchuntersuchung. 2. Die saprophytische Flora der Milch usw. 3. Das Pasteurisieren der Milch. 4. Butter. 5. Käse. (Berichte über Ergebnisse der Bakteriologie, Chemie usw. von Milch, Butter und Käse sollen von jetzt ab regelmäßig in dieser Zeitschrift erscheinen.) Davis (Heidelberg).

Savini, E., Influenza dei foraggi insilati e delle barbabietole sulla composizione del latte, sulla fabricazione del burro e su quella di alcuni tipi di formaggi crudi. II. (Ann. Ist. Sperim. Caseificio Di Lodi. Bd. 4. 1933. S. 273—303.)

Diejenigen Daten, die in eine Beziehung zur Bakteriologie der Milch- und Milcherzeugnisse gebracht werden können, sind folgende: 1. Die Milch von Kühen, die mit Heu gefüttert worden sind, hat eine bessere Qualität wie die Milch von Kühen, die mit Gras- oder Rübensilage gefüttert worden sind. Auch ist der Säuregrad von Silagemilch ein höherer. 2. Die Butterqualität, insbesondere bezüglich Geschmack, Geruch und Gefüge, sinkt bei Verwendung von Silagemilch, wobei die „Rübensilage"-Butter in Geschmack und Geruch etwas schlechter abschneidet als die „Grassilage"-Butter. 3. Von den zum Versuch herangezogenen Weichkäsetypen wird der Typ „Bel paese" durch die Grassilagemilch wesentlich ungünstiger beeinflußt als der Typ „Crescenza", der Hauptfehler ist Blähung und Fehlen des charakteristischen Bel paese-Aromas, dazu kommt Buttersäuregeruch und -geschmack. Die Rübensilage schneidet, im ganzen betrachtet, etwas besser ab (keine Blähung und kein Buttersäurearoma). Immerhin lassen aber auch die aus Rübensilagemilch hergestellten Käse den Schmelz vermissen, der für die beiden Käsesorten typisch ist. Die Reifung erleidet unter sonst gleichen Bedingungen eine Verzögerung, der dann ein sehr rascher Zerfall und Ungenießbarwerden folgt. Leider fehlen nähere Angaben über die Qualität des verwendeten Silagefutters, denn diese ist für den Ausfall insbesondere eines Käsereiversuches ausschlaggebend. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Arup, Paul S., and van Gilmour, B. G., Investigations to test bacteriologically and chemically the effect of cold storage on the keeping quality of Irish Free State butter. (Agric. Dept. Journ. Vol. 31. 1932. p. 179.)

Es wurde gefunden, daß die Verschlechterung des Geruches durch chemische Veränderungen verursacht wurde, die höchstwahrscheinlich oxidativ waren und durch Enzyme oder chemische Substanzen, die in der Butter enthalten sind, hervorgerufen wurden, denn die Kühltemperatur (— 7°) erlaubte wahrscheinlich nicht das Wachstum von Hefen, Pilzen oder Bakterien. Es wird vorgeschlagen, die Kühlung in einer inaktiven Atmosphäre, wie z. B. Stickstoff, vorzunehmen. Butter, mit großen Eiweiß- und Aziditätswerten, hatte sich schlecht bewährt. Davis (Heidelberg).

Savini, E., Sulla maturazione del formaggio gorgonzola. (Ann. Ist. Sperim. Caseificio Di Lodi. Bd. 6. 1933. S. 145—151.)

In vergleichenden Käsereiversuchen wurden Gorgonzola-Käse mit und ohne Zugabe von Schimmelkultur hergestellt. Die verwendete Milch hatte einen Fettgehalt von 3,7—3,9%, einen Trockenmassegehalt von 12,0 bis 12,8%, eine Azidität von 7,0—7,6 S.H. und wies in der Reduktaseprobe mittlere Qualität auf. Die Fabrikationsdaten zeigten sich unabhängig davon, ob den Käsen Schimmelkultur künstlich zugefügt worden war oder nicht. Somit verlangte also die Zufügung der Schimmelkultur keine besondere Behandlung des Käses während der einzelnen Fabrikations- oder Reifungsvorgänge. Unterschiede ergaben sich jedoch bei der chemsichen Analyse und im Aussehen des geschnittenen reifen Käses. Der allgemeine Reifungsgrad war bei den mit Schimmelkulturen hergestellten Käsen um rund das 2½fache höher als bei den gewöhnlichen Käsen. Die Reifungszeit der erstgenannten schwankte von 2½—3½ Mon., der letztgenannten von 3½—4½ Monaten. Die mit Kultur hergestellten Käse waren somit den anderen um ungefähr 1 Monat in der Reifung voraus. Auch war bei jenen die Schimmelbildung als solche eine durchwegs bessere. Ein weiterer Vorteil der Kulturanwendung besteht in der Sicherheit der Fabrikation.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Morgan, G. F. V., Discolouration in New Zealand Cheddar cheese. Muddy, pink and bleached defects. I. Bacteriological investigations. (Journ. Dairy Res. Vol. 4. 1933. p. 226.)

Es werden die für Ausbleichen, rosa und schmutzige (leicht braune) Verfärbung in Neu Seeland-Cheddar-Käse verantwortlichen Faktoren beschrieben. Davis (Heidelberg).

Bondioli, M., Alcune ricerche sulla relazione fra acidità d'un siero e suo contenuto microbico. (Ann. Ist. Sperim. Caseificio Di Lodi. Bd. 6. 1933. S. 179—185.)

Die frische, dem Käsekessel entnommene Parmesan-Molke besaß bei einer Temperatur von 45° eine Azidität von 4,0 (n/10 NaOH pro 20 ccm Molke) und einen ph von 5,9. Die Bakterien bestanden zu $^4/_5$ aus Streptokokken und $^1/_5$ aus Stäbchen. Dann wurde die Probe gedrittelt und jeder Teil bei verschiedenen Temperaturen (22°, 30°, 41°) verschieden lange aufbewahrt (6 und 24 Std.). Mit der Höhe der Temperatur und Länge der Aufbewahrung stieg die Azidität entsprechend, ebenso die Wasserstoffionenkonzentration, diese aber bei 41° C in etwas geringerem Ausmaß als man nach dem Anstieg bei 22 und 30° erwarten durfte. Allgemein war charakteristisch, daß die Stäbchen zunehmen und die Strepto-

kokken abnehmen. Während aber die Keimzahlparität der beiden Gruppen bei 22° C erst nach 24 Std. erreicht wurde, war diese bei 30° bereits nach 4 Std. und bei 41° nach 3½ Std. erreicht. Nach Überschneidung der beiderseitigen Wachstumskurven nahmen die Stäbchen weiter zu, die Streptokokken weiter ab, bis sich schließlich ein gewisses Gleichgewicht zwischen beiden Gruppen einstellte. Das Stäbchen-Kokken-Verhältnis stieg mit der höheren Bebrütungstemperatur. Für die Ansäuerung der Kesselmilch bei der Parmesanbereitung ist es zweckmäßig, nur solche Molke anzuwenden, die eine Parität zwischen Stäbchen und Kokken besitzt (also Molke, die 24 Std. bei 22°, 4 Std. bei 30 ° oder 3 Std. bei 41° bebrütet worden ist).

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Sacco, V., Sostanze detergenti-disinfettanti nell' industria del latte. (Ann. Ist. Sperim. Caseificio Di Lodi. Bd. 6. 1933. S. 151—170.)

Nach einer eingehenderen Betrachtung über die Forderungen, die in einem Molkereibetriebe an die reinigende und bakterizide Kraft der Wasch- und Desinfektionsmittel gestellt werden müssen, wird über eigene Versuche berichtet. Zunächst wurden Butterfaßdesinfektionsversuche durchgeführt mit folgendem Durchschnittsergebnis (pro Kubikzentimeter Nachspülwasser):

	Heißwasser	1 proz. Neomoscanlösung
Allgemeine Keimzahl	2100	240
Bakterien	800	105
Schimmel	1300	135

Eine Schädigung der Butter infolge Chlorgeruchs war nicht zu beobachten. Vergleichende Desinfektionsversuche an Molkereigeräten aus Metall zeitigten das folgende summarische Ergebnis (Keime pro Kubikzentimeter Schwenkwasser):

1. Nach Kaltwasserspülung	1 480 000
2. Nach Behandlung mit 2 proz. Sodalösung	9 000
3. Nach Behandlung mit 1 proz. Neomoscanlösung	1 150
4. Nach Behandlung mit 2 proz. Neomoscanlösung	370

Ähnliche Resultate wurden bei der Flaschenreinigung erhalten.

Wie sich der Temperaturgrad der verschiedensten Reinigungs- und Desinfektionslösungen auf die Keimabtötung auswirkt, wurde in einer 4. Versuchsserie untersucht. Die angewandten Temperaturen waren 20, 40, 60 und 80° C, die Lösungen folgende: Gewöhnliches Wasser, Soda, Natronlauge, gew. Laugelösung, Detersol, Liebicin, Neomoscan, Neomoscan kristallinisch, Formalin und P_3 (alle in Abstufungen von 1,2 und 3%). Vom gewöhnlichen Wasser und Formalin abgesehen, war die Reinigungskraft bei allen Mitteln ungefähr die gleiche; die bakterizide Kraft war jedoch bei den chemischen Spezialmitteln eine viel stärkere (insbesondere bei Liebicin und Neomoscan). Daß die Wirksamkeit mit der steigenden Temperatur und Konzentration entsprechend zunahm, braucht nicht besonders geschildert zu werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Schütza, M., Hefenauswahl. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 368—370.)

Die Auswahl und Erprobung geeigneter, aus Reinzuchten stammender

Heferassen im praktischen Betrieb ist dadurch erschwert, daß die Herführung für die gangbaren Bottichgrößen ausreichender Mengen und vergleichende Führungen nacheinander viel Zeit erfordern, während deren Ablauf die Betriebsverhältnisse in der Regel nicht völlig gleichartig gehalten werden können. Verf. prüfte, wie weit es möglich ist, durch Laboratoriumsversuche die Eigenschaften eines Hefestammes vorherzusagen. Er stellte zunächst eine Reihe verschiedener Hefetypen seines Betriebes (obergärige, untergärige Bruch- und Staubhefen), die als Agarreinzuchten aufbewahrt wurden, in Bierwürze zur Gärung an und beobachtete, ob Unterschiede in der Art und dem Grad der Vergärung auftraten. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die möglichst gleich weit vergorenen Würzen auf Flaschen gefüllt, auf Flaschen gezogen, bei 0° einen Monat lang aufbewahrt und dann geschmacklich geprüft.

Bei der ersten Versuchsreihe stellte man erhebliche Unterschiede im Ankommen und in der Vergärung fest. Die Daten der Bieranalyse ließen aber keinerlei Schlüsse auf eine etwaige Rassengleichheit der angewandten Hefenstämme zu. Die Endvergärungsgrade aller Hefen in derselben Würze waren praktisch gleich, sie unterschieden sich nur um wenige Zehntel. Auch die Kostproben führten zu keinen verwertbaren Resultaten und erscheinen nur berufen, gewisse Anhaltspunkte zu geben, da bei derartigen Kleingärungen erfahrungsgemäß Bukettstoffe auftreten, die bei der Großgärung nicht in Erscheinung treten. Der Zweck der Versuche wurde also nicht erreicht, aber es konnte wenigstens festgestellt werden, daß jene Stämme bei diesen Prüfungen am besten abschnitten, die auch im Betrieb in ihren Eigenschaften am meisten befriedigten. Heuß (Berlin).

Richter und **Damm, H.**, Bericht über eine Prüfung des Astra-Plattenerhitzers als Bierpasteurisierungsapparat. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 105—108, 113—118.)

Sowohl die Bierpasteurisierung in der Flasche als im Tank ist wärmewirtschaftlich nicht besonders günstig, erfordert räumlich sehr bedeutende Anlagen und große technische Erfahrung. Versuche der Verff. dienten dem Zweck, festzustellen, ob die Bierpasteurisierung (Verlängerung der Haltbarkeit normalen Bieres und Abtötung von Infektionskeimen in kranken Bieren) durch eine kurzfristige, aber gleichmäßige Erhitzung in einem modernen geschlossenen Erhitzer vom Typ der Plattenerhitzer erreicht wird, die auf anderen Gebieten der Pasteurisierung empfindlicher Nahrungs- und Genußmittel mit großem Erfolg arbeiten. Es war zu ermitteln, welche Temperaturen notwendig sind, um im Bier enthaltene Kulturhefen bzw. Bierschädlinge sicher abzutöten, mit welchen Drucken zu arbeiten ist, um Kohlensäureverluste zu vermeiden und schließlich, ob sich eine einwandfreie Pasteurisierung unter Vermeidung von Kohlensäureverlusten, Geschmacksverschlechterungen oder Eiweißausfällungen erreichen läßt.

Es konnte bewiesen werden, daß eine sichere Abtötung der im Bier enthaltenen Kulturhefen und versuchsweise gesundem Bier zugesetzter Infektionsorganismen — Biersarzinen, Biermilchsäurebakterien, Termobakterien, Essigbakterien und Kahmhefen — bei Verwendung des verstärkten Heißhalters bei Temperaturen oberhalb 61,8° erzielt wurde. Bei Erhitzungstemperaturen von 61—67° wurden bei hellem Lagerbier nach Pilsener Art weder geschmackliche Veränderungen noch Eiweißausscheidungen beob-

achtet. Kohlensäureverluste lassen sich durch eine geringe Steigerung des Drucks am Auslauf des Heißhalters vermeiden. Heuß (Berlin).

Horch, R., Natürliche Reinigung und Klärung auf dem Gärbottich und im Lagerfaß. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 336—338.)

Die Gär- und Lagerkellerwirtschaft übt einen großen Einfluß auf die Qualität des Bieres aus. Es ist wichtig, daß nur eine frische, gärkräftige Hefe verwendet wird, vor allem aber, daß die richtige Heferasse ausgewählt wird. Auf dem Gärbottich muß eine weitgehende Reinigung der Würze von den geschmacklich unedlen Trubstoffen vor sich gehen, was nur erreicht wird, wenn die Säureverhältnisse während der Gärung richtig gestaltet werden. Kleine Hefegaben und kalte Gärführung haben sich für den notwendigen langsamen und stetigen Säureanstieg als am vorteilhaftesten erwiesen, der dann zum richtigen Zeitpunkt zur Flockung der Hefe führt. Richtige Bauart und Auswahl der Gärgefäße in Verbindung mit Außenkühlung, durch welche das Absinken der Schwebebestandteile nicht gestört wird, sind weitere Faktoren, welche im Gärkeller die natürliche Reinigung und Klärung fördern.

Im Lagerkeller leitet man die Nachgärung zweckmäßig durch Zugabe kleiner Mengen gärkräftiger, hochvergärender Hefe zu dem im Gärkeller schon möglichst weit vergorenen und geklärten Bier ein, auch hier führt dann ein richtig regulierter Säureanstieg zu weiteren Ausscheidungen und Klärung. Diese „natürliche" Reinigung und Klärung des Bieres verdient den Vorzug vor der künstlichen mit Hilfe von Spänen verschiedenster Art.

Heuß (Berlin).

Schulteis, A., Neuartige Hopfenkonservierung durch ein besonderes Verfahren zur Herstellung gekühlter Luft. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 87—88.)

Feuchtigkeit, Wärme und Sauerstoff sind die Hauptfaktoren, welche eine Zersetzung und dadurch eine Qualitätsverminderung des eingelagerten Hopfens bewirken. Durch Eindringen von Feuchtigkeit neigt besonders nicht sachgemäß getrockneter Hopfen leicht zum Schimmeln und bekommt einen dumpfen Geruch, der sich dem Bier mitteilen kann. Durch Einfluß von Wärme und Luftsauerstoff treten sehr bald sog. Alterungserscheinungen am Hopfen auf. Der dabei auftretende ranzige Geruch wird durch chemische Umsetzungen und Mikroorganismentätigkeit hervorgerufen. Die wirksamsten Mittel, den eingelagerten Hopfen vor diesen Schädigungen zu bewahren, sind Kälte und Trockenheit, die Hopfenkeller sind deshalb in der Regel mit einem durch Sole gekühlten Rohrsystem ausgestattet. Bei langer Aufbewahrung des Hopfens in derart gekühlten Räumen besteht jedoch die Gefahr, daß der Hopfen zu weit ausgetrocknet wird und dadurch an Wert verliert. Dagegen kann man sich schützen durch das Verfahren zur Herstellung gekühlter Luft nach dem patentierten Verfahren von Horch-Schlick, dessen Prinzip darauf beruht, daß man die Luft ohne Rohrsystem im Lagerraum direkt durch Verdüsung von Sole kühlt, dabei entkeimt und so, oder wenn nötig angefeuchtet, dem Hopfenkeller zuleitet. Der Hopfen wird auf diese Art kalt gehalten und behält seinen natürlichen Feuchtigkeitsgehalt. Heuß (Berlin).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Winning, E. v., Das weitere Vordringen des Kartoffelkäfers in Frankreich im Jahre 1932. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 17—18.)

Das Ausbreitungsgebiet hat sich gegenüber 1931 nur um 6 Departements erweitert, dagegen hat die Intensität des Befalls erheblich zugenommen. Es gelten nunmehr 569 Kantone und 534 Gemeinden als verseucht; 1931 waren noch 364 Kantone und 546 Gemeinden als verseucht genannt. Eine Verbreitungskarte erläutert das Befallsgebiet vom Jahre 1931 und 1932; ferner ist die 200 km-Zone eingetragen, aus der während der Sommermonate die Aus- und Durchfuhr von frischem Gemüse und anderen frischen Gewächsen verboten ist. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Krüger, K., Vergiftungserscheinungen an Weidevieh nach der Verwendung von arsenhaltigen Stäubemitteln. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 1—2.)

Ein mit Hornschotenklee (*Lotus corniculatus*) zur Samengewinnung bestelltes Feld von 12 Morgen wurde mit 4 kg je $^1/_4$ ha eines arsenhaltigen Stäubemittels behandelt. 57 Tage später fand die Ernte des Klees statt. 4 Wochen darauf wurde eine Rinderherde auf das Feld getrieben. Nach wenigen Tagen zeigten besonders 4 Milchkühe starke Vergiftungserscheinungen. Drei von den Tieren gingen ein. Die Untersuchung ergab, daß jedes der eingegangenen Tiere durchweg etwa 25 mg As_2O_3 in der Leber und 2,8 mg in der Milz aufgespeichert hatte. Der aufgereuterte Hornschotenklee hatte einen Durchschnittsgehalt von 0,0011% As_2O_3 der lufttrockenen Substanz. Die gleichfalls durchgeführte Untersuchung der Stoppeln bzw. des Nachwuchses auf Arsen fiel negativ aus. Es ergibt sich die Notwendigkeit, mit Arsenpräparaten behandelte Grünfutterflächen, die nach einer Samengewinnung oder auch unmittelbar verwertet werden, für die Verfütterung an sämtliche Haustiere auszuschalten.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Nitsche, G., Methoden zur Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. 3. Die Bestimmung des Wachslösungsvermögens von Blutlausmitteln. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 9—10.)

Zur eindeutigen Beurteilung des Wachslösungsvermögens werden zwei Verfahren beschrieben: Die Tauchmethode und die Auflegemethode. Im ersten Fall werden von der Blutlaus befallene Zweigstücke 2 Sek. in gebrauchsfertige Brühen getaucht, wobei aber eine zahlenmäßige Bewertung der Wachslösung nicht möglich ist. Bei dem zweiten Verfahren werden die Wollausscheidungen von 10 Tieren in 3 ccm enthaltende Schälchen gebracht und die wachslösende Wirkung mit der Stoppuhr ermittelt. Die Berichtigung einiger Werte findet sich in der nächsten Nummer des Nachrichtenblatts auf S. 18. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Brandenburg, E., Onderzoekingen over ontginningsziekten. II. [Untersuchungen über Urbarmachungskrankheiten. II.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 8. 1933. S. 189—192, mit 1 Taf.)

Verf. setzt seine Untersuchungen über die Urbarmachungskrankheit, worüber er schon früher berichtete (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Heft 2. 1931. S. 17—47) fort mit der Feststellung des Einflusses von Kupfer in Wasserkulturen mit Hafer. Gearbeitet wurde mit der Nährlösung nach Zinzadze (ph 5,5—6,5) unter Zufügung kleiner Mengen von Borsäure, Mangansulfat, Zinksulfat, Aluminiumsulfat und Kaliumsilikat; die Versuchstöpfe wurden in zwei Reihen, mit und ohne Kupfersulfat, aufgestellt. Es ergab sich, daß die Pflanzen sich nur bei Anwesenheit von Kupfer normal entwickelten. Die Frage, ob die früher beschriebene Pythium-Krankheit der Futterrüben als zur Urbarmachungskrankheit gehörig zu rechnen sei, könne jetzt dahin beantwortet werden, daß diese parasitäre Krankheit von der Urbarmachungskrankheit abzutrennen sei, zumal auch die Pythium-Krankheit durch Kupfergaben nicht geheilt werden könne.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Iljin, W. S., Über den Kältetod der Pflanzen und seine Ursachen. (Protoplasma. Bd. 20 1. 1933 10. S. 105—124, 4 Abb.)

Nach einer kritischen Darstellung der Theorien des Kältetodes der Pflanzen stellt Verf. seine eigenen Versuche mit Rotkohlblättern dar. Zu unterscheiden sind zwei Fälle: der, daß beim Gefrieren Wasser aus den Zellen austritt und der, daß das Wasser in den Zellen gefriert. Im ersteren Falle kommt es zu einer Entwässerung, die mit dem Austrocknen verglichen werden kann. Verf. verwendete für das Gefrieren Kryohydratkältemischungen. Der Verlauf des Absterbens des Plasmas wird geschildert. Der Tod während des Auftauens ist die Folge einer schnellen Ausdehnung des Protoplasten. Die beim Gefrieren stark zusammengezogenen Membranen schwellen wieder an, reißen aber das Protoplasma mit oder reißen sich von ihm los. Wird den gefrorenen Geweben eine plasmolysierende Lösung zugesetzt, so unterbleibt die Ausdehnung des Protoplsaten. Unter solchen Umständen wurde selbst — 11,3° C vertragen. Calciumchloridlösungen bewahren besonders gut das Leben der Gewebe. Sehr günstig wirkten auch konzentrierte Rohrzuckerlösungen, schwach Glyzerin und Salze monovalenter Metalle. Durch vorsichtiges Manipulieren kann man erzielen, daß die Zellen bei — 21° bis 33,6° und sogar bei — 80° am Leben bleiben. Beim Erstarren des Wassers in der Vakuole liegen ganz andere Todesursachen als beim Auskristallisieren aus der Zelle vor, das Gewebe stirbt in diesem Falle während der Abkühlung und der Vorgang kann dann mit dem Austrocknen nicht verglichen werden.

K. Friederichs.

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Nisikado, Y. und Matsumoto, H., Weitere vergleichende Untersuchungen über die durch Lisea Fujikuroi Savada und Gibberella moniliformis (Sh.) Wineland verursachten Gramineenkrankheiten. (Berichte des Ohara-Institutes. Bd. 5. 1933. S. 481—500, 3 Taf.)

Verff. konnten feststellen, daß der „Bakanae"-Pilz Lisea Fujikuroi nicht nur an Reis, sondern auch an Zea Mays, Panicum miliaceum, Andropogon Sorghum subsp. sativus var. vulgaris, Hordeum sativum var. vulgare, var. hexastichon und Saccharum officinale abnorme Verlängerung des Keimlings hervorruft. Ein Fusarium moniliforme-Stamm aus

Mexiko, der bei früheren Versuchen auch eine Verlängerung des Keimlinge verursachte, zeigte dieses bei den jetzigen Versuchen nicht.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Samuel, G., and Garrett, S. D., Ascospore discharge in Ophiobolus graminis and its possible relation to the development of white heads in wheat. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 721—728.)

Verff. konnten zeigen, daß die angefeuchteten Perithezien von Ophiobolus graminis Askosporen in die Luft ausschleudern und zwar einige hundert Sporen in der Minute von einem kranken Weizenhalm. Die Askosporen werden durch den Wind fortgetragen und bleiben bei Trockenheit 3—4 Tage, wenn es feucht ist länger als eine Woche lebensfähig bei einer Temperatur von 12° C. Der größte Verlust durch Fußkrankheiten wird in Süd-Australien durch die Weißährigkeit verursacht. Diese zeigt sich besonders stark bei regnerischem Wetter, wenn der Weizen in Ähren steht. Der Verlust betrug 1932 mehrere Millionen Bushels. In stark befallenen Beständen können in der Nähe der zuerst befallenen Stellen stets Pflanzen gefunden werden, die bereits vor der Blüte abgestorben waren und auf denen sich Perithezien befanden. Verff. sind daher der Ansicht, daß das epidemische Auftreten der Weißährigkeit auf die Verbreitung der Askosporen durch den Wind zurückzuführen ist. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Woodroof, N. C., Two leaf-spots of the Pea nut (Arachis hypogaea L.). (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 627—640, 6 figs.)

Verf. kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß als Erreger von Blattflecken bei Arachis hypogaea in Georgien 2 Pilze in Frage kommen. Cercospora arachidicola kommt ziemlich regelmäßig jedes Jahr vor, besonders wenn es trocken ist; C. personata kommt dagegen in unregelmäßigen Zwischenräumen vor. Wahrscheinlich ist für sein Auftreten feuchte Witterung günstig. Cercospora personata ist schädlicher als C. arachidicola und führt meistens zur vollständigen Entlaubung. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Nisikado, Y., and Yamauti, K., Contributions to the knowledge of the sap stains of wood in Japan I. (Berichte des Ohara-Institutes. Bd. 5. 1932. S. 501—538, 1 Abb., 12 Taf.)

Als Erreger der besonders in West-Japan auftretenden Blaufäule, die an Pinus densiflora und P. Thunbergii auftrat, wurde Cerastomella ips Rumbold festgestellt. Verff. untersuchten eingehend die Morphologie und Physiologie des Erregers. U. a. wurde das Verhalten auf verschiedenen Nährböden beobachtet; das Temperaturminimum für das Myzelwachstum liegt zwischen 6—8° C, das Optimum zwischen 27 und 29° C und das Maximum bei 35° C. Die Konidienbildung war am besten bei 27—31° C, die Perithezienbildung bei 27—29° C. Die Konidien wurden bei 52° C nach 10 Min. abgetötet. Bei Sauerstoffentzug fand weder Konidienkeimung noch Myzelwachstum statt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Jenkins, A. E., Further studies of Lima-bean scab. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 662—666, 1 fig.)

Elsinoe canavaliae kommt auf Phaseolus lunatus

macrocarpus nicht nur, wie früher berichtet, in Cuba, Puerto Rico, Sinalva und Mexico, sondern auch in Costa Rica, Guatemala, El Salvador, Zentralamerika, der Dominikanischen Republik und vielleicht auch in Jamaica vor. Dagegen nicht in Georgien, Süd- und Nordkarolina, Virginia, New Jersey und New York. Der Erreger konnte nicht von trockenen Hülsen, die für 5 Mon. bei Zimmertemperatur oder bei 17° C gehalten waren, isoliert werden. Askosporen von Flecken auf den Hülsen auf Nährböden gebracht und bei 8° C gehalten, um das Wachstum zurückzuhalten, blieben durchsichtig oder blaß, während Askosporen in frischen Flecken einige Tage feucht gehalten, rötlichbraun waren. Kulturen waren nach 3 Wochen bei 0° C nicht, bei 5° C wenig und bei 25° C sehr gut gewachsen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Müller, A. S., Observations and notes on citrus diseases in Minas Geraes, Brazil. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 734—737.)

An Citrus kommt an den Stämmen Gummifluß vor. An Sämlingen wurde eine Phytophthora-Spezies, wahrscheinlich P. parasitica, ein Fusarium und ein Bakterium beobachtet. Eine Wurzelfäule trat an einigen Stellen an Tangerine auf. Gefunden wurden je eine Spezies von Fusarium und Nectria. Schwarzbeinigkeit wurde in 2 Jahren in Saatbeeten festgestellt, im 3. Jahr jedoch nicht mehr. Auf Blättern, Zweigen und Früchten zeigten sich Schorf, Melanose und Anthraknose. In eng gepflanzten Kulturen trat Septobasidium albidum auf. Blattflecken wurden durch Phyllosticta hesperidearum, Ascochyta citri und Cephaleurus mycoidea verursacht. Rußtau und schwarze Melanose auf den Blättern richteten gelegentlich Schaden an. Penicillium digitatum und P. italicum waren die Ursache der Blau- bzw. Grünfäule. Als Erreger der Sauerfäule wurde eine Spezies von Oospora, wahrscheinlich O. citri-aurantii festgestellt. Fruchtfäulen wurden außerdem durch Aspergillus niger, Alternaria und Fusarium hervorgerufen. Bei Citrus wurden auf den Schildläusen Cephalosporium lecanii Zimm., Tubercularia coccicola Stev., Myriangium duriaei Mont., Podonectria sp. und Microcera sp. beobachtet. Diese Pilze spielen eine bedeutende Rolle bei der Bekämpfung der Schildläuse. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Fawcett, H. S., New locations for Phytophthora citrophora und P. hibernalis on citrus. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 667—669.)

In Kalifornien verursachen Phytophthora citrophthora, P. parasitica und P. hibernalis die Braunfäule bei Citrus. Dieselben Pilze kommen im Mittelmeergebiet vor. P. citrophthora und P. parasitica kommen in allen Gegenden vor, in denen Citrus wächst.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bouman, Adriana, Bestrijding van bacterieele wortelknobbels bij appel en peer. [Bekämpfung von Bakterienkrebs bei Apfel und Birne.] (Tijdschr. over Plantenziekten. Heft 9. 1933. S. 217—223.)

Bakterienkrebs, auch Wurzelkropf genannt, kann in den Baumschulen großen Schaden verursachen. Äußerlich sind die befallenen jungen Bäumchen oft daran zu erkennen, daß das Wachstum ganz aufhört, fast immer

aber befinden sich an den Wurzeln Knötchen, welche große Massen von Bakterien enthalten, und zwar B. tumefaciens Sm. et Towns.

Die Bekämpfung der Krankheit durch Bodendesinfektion ergab keine befriedigenden Resultate und ist außerdem zu teuer. Besser bewährte sich die Vorbehandlung von jungen Wildling-Stecklingen mit Uspulunbrei, erhalten durch Mischung tonhaltiger Erde mit ½proz. Uspulunlösung.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Mc. Cown, M., Weak Bordeaux spray in the control of fire blight. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 729—733.)

Kupferkalkbrühe 1 : 3 : 50 zur Zeit der Vollblüte bei der Sorte Grimes angewandt, schützte bei Infektion unmittelbar nach der Spritzung und nach 24 Std. mit Bacillus amylovorus gegen Befall. 1931 wurden 48% der Blütenbüschel bei Infektion unmittelbar nach Spritzung und 50% bei Infektion 24 Std. nach der Spritzung, die nicht bespritzten Büschel dagegen 100 proz. befallen. 1932 war der Befall bei unbehandelt 57%, bei behandelt 10%. Bei natürlicher Infektion beim Jonathan-Apfel wurde der Befall durch die Spritzung mit Kupferkalkbrühe um 67% vermindert. Durch die Behandlung wurden keine Schäden an Blättern und Blüten hervorgerufen. Auch der Fruchtansatz wurde nicht beeinflußt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Ebeling, W., Variation in the population density of the California Red Scale, Aonidiella aurantii Mask., in a hilly lemon grove. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 4. 1933 8. p. 851—854.)

Es hat sich gezeigt, daß in Kalifornien die höher gelegenen Zitronenpflanzungen stärker von der Schildlaus Aonidiella aurantii befallen zu sein pflegen, ebenso innerhalb ein und derselben Pflanzung die höher gelegenen Teile stärker als die niedrig gelegenen. Vergleichende Messung der Lufttemperaturen von Mitte April bis Mitte Mai ergab bei 40 Fuß Höhenunterschied einen durchschnittlichen Temperaturunterschied von 4,73° F., und zwar waren die höher gelegenen Zitronenhaine die wärmeren. Da die Pflege der Bäume und die Bekämpfung der Schildläuse überall die gleiche war, so erblickt Verf. in dem Temperaturunterschied die Ursache des stärkeren Schildlausbefalls. K. Friederichs.

Werth, E. und Klemm, M., Apfelblütenstecher-Befall und Ernteergebnis. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 87—88.)

In einem weiteren Aufsatz weisen Verff. darauf hin, daß auch das „Tränen“ der Sproßknospen infolge der Einstiche des Käfers nach der Entfaltung der Blätter für deren Assimilation kaum von Bedeutung sind, da der Ausfall nur höchstens 1,56% der Gesamtblattfläche betrug. Es werden dann noch einige russische Arbeiten besprochen, die zu dem Problem der wirtschaftlichen Bedeutung des Apfelblütenstechers Stellung nehmen und die Behauptungen der Verff., daß „die Nährstoffe, welche für die befallenen Blüten nach der Vernichtung ihrer Organe durch den Blütenstecher nicht mehr nötig sind, den restlichen Blüten des betreffenden Büschels zugute kommen“, durchweg bestätigen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Blunck, H., Über Möglichkeiten zur Eindämmung der Kartoffelnematodenplage. (Ztschr. Pflanzenkrankh. Bd. 43 2. 1933. S. 68—77.)

Der Kartoffelnematode, zur vielgestaltigen Spezies Heterodera schachti gehörig, ist bisher nur aus nordischen Ländern mit kühlem, mittelfeuchtem Klima gemeldet worden. Der Wurm ist in regenreichen Jahren (1922, 1926, 1931) stärker als sonst aufgetreten, wobei es auf die Niederschläge in den Monaten Mai bis Juli ankommt. Nächstdem werden Verbreitung und Vermehrung des Schädlings durch die Bodenverhältnisse bestimmt. Auf ausgesprochen schwerem Boden wird er nicht schädlich. Aber auch auf leichtem Boden innerhalb jener Klimagebiete kommt nur da Schaden vor, wo der Boden durchweg oder mindestens jedes 2. Jahr Kartoffeln trägt. Selbst die einfache Dreifelderwirtschaft schließt ihn schon aus. Je länger der ausschließliche Kartoffelanbau andauert, um so heftiger tritt die Seuche auf. Diese Nematodenform bringt nur 1 Generation jährlich hervor. Verf. hält es aber für möglich, daß darin eine Veränderung eintreten kann, weil H. schachti uns bereits viele Überraschungen bereitet habe.

Die verseuchte Fläche ist im Verhältnis zur Gesamtfläche des Kartoffelbaues belanglos, der Schaden für den einzelnen Kleingärtner aber schwer. Dazu kommt die Gefährdung des Außenhandels. Zur Tilgung der vorhandenen Seuchenherde kommt nur das mehrjährige Aussetzen des Kartoffelbaues in Frage, das nötigenfalls behördlich angeordnet werden muß. Es pflegt die betreffenden Kleingarteninhaber schwer zu treffen. Gärtnerische Vereinigungen, verpachtende Städte usw. sollten vorschreiben, daß der Kartoffelbau auf gleicher Fläche nur alle drei Jahre stattfinden darf. Wichtig ist die Verhinderung der Verschleppung verseuchten Materials; außerdem ist Aufklärung aller Interessenten nötig. — Außer der Kartoffel wird nur die Tomate befallen. K. Friederichs.

v. Winning, E., Der Stand der Ausbreitung der Bisamratte in Deutschland. (Nachrichtenblatt f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 12. 1932. S. 91—93.)

Die Bisamratte hat bis zum 31. März 1932 in Süddeutschland die Linie Würzburg—Augsburg erreicht. Einige vorgeschobene Punkte finden sich in Württemberg, ferner in Westhannover, Nordwestbrandenburg und Grenzmark. Es werden sodann die Fangergebnisse aus den verschiedenen Landesteilen mitgeteilt und zu den Ergebnissen der letzten Jahre in Vergleich gesetzt. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Barnes, H., Studies of fluctuations in insect populations. I. The infestation of Broadbalk wheet by the Wheat Blossom Midges (Cecidomyidae). (Journ. animal Ecology. Vol. 1 1. 1932 5. p. 12—32, 6 fig.)

Der Massenwechsel (die wechselnde Individuenzahl) der in den Blüten des Weizens sich entwickelnden Gallmücken Contarinia tritici und Sitodiplosis mosellana wurde auf einem Versuchsfelde von 1927—1931 verfolgt. Die Anzahl nahm stetig zu; ihre Feststellung erfolgte durch Zählung der Larven in einer bestimmten Zahl von Ähren. Verschiedene Düngung hatte keinen Einfluß auf die Menge. Als Parasiten

kamen verschiedene Schlupfwespen vor, die von 1929—1931 in verschiedener Menge auftraten und von der erstgenannten Gallmückenart 10—53%, von der zweitgenannten 43—85% töteten. Die Erörterung des Verhältnisses ihrer Menge zu derjenigen der Gallmücken wird bis zum Vorliegen weiterer Zahlen aufgeschoben. Das Bemerkenswerte dieser Feststellungen liegt in der Erstreckung der Untersuchung auf eine Anzahl aufeinanderfolgender Jahre.

In einer Notiz im nächsten Heft weist Verf. auf die Möglichkeit periodischer Schwankungen hin; als Jahre besonderer Häufigkeit sind 1916, 1920, 1926 und dann wieder 1931 bekannt. Aber die Länge dieser Perioden schwankt demnach zwischen 4—6 Jahren. K. Friederichs.

Kemper, H., Versuche über die Wirkung von Pyrethrumblütenpulver auf Tiere verschiedener Klassen mit besonderer Berücksichtigung der wasserbewohnenden Arten. (Ztschr. f. Gesundheitstechnik u. Städtehyg. Jahrg. 1933. Sonderdr. 8 S.)

Verf. berichtet, wie bei seinen eigenen Versuchen Insektenpulver auf Tiere verschiedenster Art, insbesondere Wassertiere, wirkte und zitiert daneben aus der Literatur, was sonst darüber bekanntgeworden ist. Sehr empfindlich sind Fische, kaum empfindlich Milben und Springschwänze; Stabheuschrecken zeigen selbst nach 3 tägigem Aufenthalt in Insektenpulver keine Vergiftungserscheinungen. Andere Insekten leiden in sehr verschiedenem Maße durch Bestäubung damit. Die Mindestmenge von „Pereat"-Pyrethrumpulver, die bei feiner und gleichmäßiger Verstäubung zur sicheren Abtötung erforderlich ist, beträgt für Stubenfliegen $1/3$ g, für Stechmücken $1/5$ g, für Schaben 2 g je Kubikzentimeter Raum. In Abwasser- oder Wasserversorgungsanlagen kann das Pulver selbst in starker Dosierung zur Beseitigung lästiger Lebewesen angewendet werden, ohne daß eine Beeinträchtigung der bei dem biologischen Reinigungsprozeß mitwirkenden Kleinlebewesen zu befürchten wäre. Je Liter 5 mg ist noch keine lethale Dosis für Fische. Bei Wasserversorgung darf das Pulver nicht in das Leitungsnetz hineingelangen. K. Friederichs.

Parker, W. B., Vapo Dust — a development in scientific pest control. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 3. 1933 6. p. 718—720, 4 Abb.)

Neuerdings werden die sog. „phytonomic oils" in reiner Form vernebelt und auf Pflanzen, ohne Schaden für diese, zur Vertilgung verschiedener Insekten mit einer besonders dazu erfundenen Maschinerie gesprüht. Diese mineralischen Öle gehören zum Typus der Schmieröle; entfernt sind daraus ungesättigte Kohlenstoffverbindungen, Schwefel und andere chemisch aktive Körper, die den Pflanzen schaden könnten. Versuche zeigten, daß sehr geringe Quantitäten dieser Öle außerordentlich starke insecticide Eigenschaften hatten, besonders wenn sie mit wenig Pyrethrum oder Nikotin kombiniert wurden. Anwendung erfolgte gegen Cicadelliden, Schildläuse, Rote Spinne und Thrips. Die starke Wirkung beruht besonders auf dem Fehlen von Wasser in dem versprühten Stoff. Es besteht Aussicht, durch Mischung mit verschiedenen Fungiciden und Insecticiden diese unverdünnten Öle auch bei der winterlichen Bekämpfung und gegen blattfressende Insekten erfolgreich anwenden zu können. K. Friederichs.

Dvořák, K., Die Maulwurfsgrille und ihre Vernichtung. (Krtonožka a její hubení.) (Flugblatt des Instituts für Pflanzenpathologie in Brünn, Schwarze Felder Nr. 201.) [Tschechisch.]

Nach einer Beschreibung der Maulwurfsgrille (Gryllotalpa vulgaris L.), ihrer Entwicklung und natürlichen Feinde, wird die künstliche Entwicklung des Schädlings behandelt. Die Tiere bei der Feldarbeit einzusammeln ist wenig wirtschaftlich. Besser ist es, kleine Düngerhaufen aufzulegen, in welche die Tiere hineinkriechen und in denen man sie dann durch Schwefelkohlenstoff vernichten kann. Am geeignetsten ist das Auslegen von Ködern. Besonders gute Erfolge wurden durch das Auslegen von Bruchreis rezielt, der mit dem vom genannten Institut eigens zu diesem Zwecke hergestellten Mittel „Murit" behandelt war. Bojanovsky (Brünn).

Verschiedenes.

Wolff, K. und **Ras, G.,** Über mitogenetische Strahlen. IV. Mitt. Über Sekundärstrahlung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 305—313.)

Die eingehende Untersuchung der von Gurwitsch beschriebenen Sekundärstrahlung (Zellen, die von mitogenetischen Strahlen getroffen werden, senden selbst mitogenetische Strahlen aus) hat folgendes ergeben: die Intensität des durchgelassenen Lichtes ist in schwächeren Suspensionen und Lösungen stärker als die des auffallenden Lichtes. Bei konzentrierteren Lösungen liegen die Verhältnisse umgekehrt. Überstrahlung macht Lösungen, die an sich sekundäre Strahlen aussenden, hierfür auf eine gewisse Zeit ungeeignet. Es ist wahrscheinlich, daß nicht nur die primäre, sondern auch die sekundäre Strahlung ihren Ursprung in chemischen Reaktionen hat. Hierfür spricht u. a., daß Filtrate von wachsenden Bakterienkulturen noch einige Zeit nach der Filtration selbst strahlen. Auch altes Blutserum zeigte die Erscheinung der Sekundärstrahlung.

V. Mitt. Über die Methodik zum Nachweis von Gurwitschstrahlen. (Ebenda. S. 314—319.)

Eine der einfacheren Methoden ist die Messung der Zunahme der Trübung einer Bakteriensuspension mittels optischen oder elektrischen Nephelometers. Dabei ist besonders zu beachten, daß 1. die Bakterienzahl nicht zu groß ist (sie soll etwa 30—40 Millionen im Kubikzentimeter betragen) und 2. die Bestrahlungszeit rationell bemessen wird. Zu lange Bestrahlung schadet ebenso wie zu kurze. Die richtige Bestrahlungszeit ist abhängig von der Art des Strahlers, vom Verdünnungsmedium der Bakterienkultur, vom Alter der Kultur, die suspendiert wird, von der Art des Gefäßes, in welcher sich der Detektor befindet (Glas oder Quarz).

Rodenkirchen (Duisburg).

Backofen, Wirkung mitogenetischer Strahlen auf Bakterien? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 366—368.)

Ausgespatelte Bakterien- und Blastomyzetenkulturen, sowie frische tierische und pflanzliche Gewebe übten auf das Wachstum empfindlicher Bakterienarten selbst bei geringem Abstand zwischen Sender und Empfänger, aerob und anaerob bei 37° und bei Zimmertemperatur gezüchtet, bei verschiedenen Einwirkungszeiten keinen Einfluß aus. Auch die Kolonieformen der betreffenden Bakterienarten und die Farbstoffbildung wurden nicht beeinflußt. Auf Grund dieser Ergebnisse wird ein Einfluß „mitogenetischer

Strahlen“ auf Bakterien abgelehnt. Positive Resultate werden auf nicht einwandfreie Methodik zurückgeführt, z. B. darauf, daß mit flüssigen Kulturen gearbeitet wurde (in denen eine gewisse Strahlenmenge absorbiert oder reflektiert wird und nur oberflächliche Strahlenwirkung erreicht werden kann) oder darauf, daß die Keimzahlen der bestrahlten Bakterien viel zu klein waren gegenüber denen der Kontrollen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Merten, R., Die säurefesten, tuberkelbazillenähnlichen Bazillen in Blasinstrumenten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 128. 1933. S. 488—498.)

Bei der Untersuchung von 17 Blechblasinstrumenten wurden im Ausguß- bzw. Spülwasser mikroskopisch stets säurefeste Bakterien gefunden, deren Säurefestigkeit mitunter ebenso groß war wie bei den echten Tuberkelbazillen. Die Züchtung gelang 9mal. In Holzinstrumenten, von denen 5 geprüft wurden, fanden sich 2mal mikroskopisch säurefeste Stäbchen. In der Mundhöhle der 22 Bläser, in deren Instrumenten säurefeste Stäbchen gefunden wurden, gelang der Nachweis dieser Stäbchen nicht, ebensowenig in der Lippenhaut. Auch die bei der Reinigung benutzten Fette waren frei von ihnen. Außerordentlich häufig waren sie in der Frankfurter Wasserleitung. Schließlich ist es noch gelungen, sie aus dem Luftstaub zu züchten. Es erscheint unmöglich, daß die säurefesten Blasinstrumentenstäbchen durch ihren besonderen Standort die Eigenschaft der Säurefestigkeit erworben haben; denn auch bei langer Fortzüchtung wurde nie beobachtet, daß die Stäbchen ihre Säurefestigkeit vollständig einbüßten, auch das Umgekehrte trat nie ein. Die Blasinstrumentenstäbchen sind vielmehr wahrscheinlich säurefeste Wasserstäbchen (kulturell bestanden kaum Unterschiede) und letzten Endes wie diese und die anderen säurefesten Stäbchen säurefeste Erdstäbchen. Die im Blasinstrument sich ansammelnde fett- bzw. petroleumhaltige Flüssigkeit ist ein besonders geeigneter Nährboden für diese säurefesten Stäbchen. Das Metall verhindert eine Überwucherung durch andere Bakterien und übt möglicherweise einen besonderen Wachstumsreiz aus.

Rodenkirchen (Duisburg).

Beers, C. D., The relation of density of population to rate of reproduction in the ciliates Didinium nasutum and Stylonychia pustulata. (Arch. Protist.kde. Bd. 80. 1933. S. 36—62.)

Didinium nasutum und Stylonychia pustulata wurden einzeln oder zu mehreren in verschieden großen Mengen Knopscher Lösung gehalten. In allen Fällen vermehrten sie sich gleich stark, es hat also kein „allelokatalytischer Effekt“ stattgefunden. Die Anzahl der Individuen in einer bestimmten Menge der Flüssigkeit erreicht durch die Vermehrung ein Maximum, über welches hinaus die vegetative Fortpflanzung nicht fortgesetzt wird. Bei Didinium trat dann Konjugation oder Enzystierung ein; von den Stylonychien starben dann die meisten; einige enzystierten auch, obgleich noch Futter vorhanden war. Diese Erscheinungen werden der Anhäufung von Stoffwechselprodukten zugeschrieben.

K. Friederichs.

Abgeschlossen am 30. Januar 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 89. No. 25/26.
Ausgegeben am 4. April 1934

Polarographische Analyse der Mikrobenkulturflüssigkeiten.

[Pflanzenphysiologisches Institut der Karlsuniversität in Prag.]

Von **J. Kořínek** und **J. Babička.**

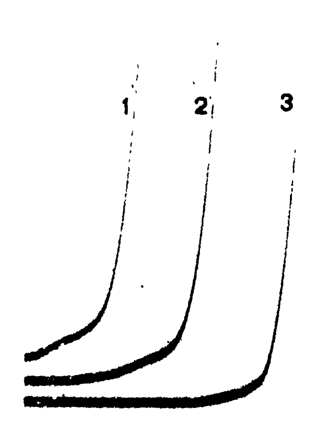
Mit 4 Abbildungen im Text.

Bisher war es nicht leicht, die chemischen Änderungen im Medium, in dem Mikroben kultiviert wurden, festzustellen. Heyrovskýs polarographische Methode ermöglichte das Studium dieses Problems. Der Vorteil der Methode liegt darin, daß schon die geringsten Spuren einiger Stoffe, die durch Tätigkeit der Mikroben entstanden sind, festgestellt werden können. Erstens sind es oberflächenaktive Stoffe, die sich bei der polarographischen Methode durch ihre Fähigkeit, das Maximum an den Kurven der Intensität und der Spannung zu unterdrücken, erkennen lassen. Zweitens sind es Stoffe, die fähig sind, an der tropfenden Quecksilberkathode die Elektroreduktion durchzuführen (Aldehyde, Ketone, Säuren, Ketosen und ungesättigte Verbindungen). Gegenüber den ersteren verursachen diese die Stromsteigerung bei der bestimmten Spannung der polarisierenden elektromotorischen Kraft. Die Stromänderungen werden bei der polarographischen Methode photographisch kontinuierlich registriert. An den so gewonnenen Polarisationskurven oder Polarogrammen lassen sich noch die Änderungen der Ordnung 10^{-6} Gramequivalent im Liter bestimmen. Zur Analyse genügt auch eine kleinere Menge als 1 ccm. Die polarographische Methode ist nicht nur qualitativ sondern auch quantitativ. Heyrovský, Smoler und Šťastný (1930) benutzten diese Methode bei dem Studium der Unterschiede zwischen dem chemisch und dem mittels bakterieller Gärung zubereiteten Essig.

Für unseren Versuch eignen sich am besten solche Stoffe, die den elektrischen Strom nicht leiten und die nach Zugabe des Elektrolytikums der Elektroreduktion unfähig sind, deren Spaltungsprodukte im Gegenteil sich sehr gut reduzieren, so daß schon die geringsten Spuren der Spaltung sich feststellen lassen. Zu den ersteren gehören z. B. Aldosen: Glukose, Mannose, Rhamnose, l-Arabinose und Xylose, und Biosen: Saccharose, Maltose, Laktose. Zu den zweiten, sich gut reduzierenden, gehören Ketosen: Fruktose und Sorbose. Diese reduzieren sich in den neutralen oder schwach alkalischen Lösungen beim Potential —1,60 Volt. An der polarographischen Kurve verursachen sie die Stromsteigung, die der Konzentration der Ketosen genau entspricht. Man kann deshalb in den Lösungen der Saccharose durch die polarographische Methode die Fruktose und den invertierten Zucker nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ feststellen und zwar mit der Genauigkeit 10—2%. Zur Analyse genügt schon 0.2 ccm der Lösung (Heyrovský und Smoler).

Das Ausscheidungspotential der Ketosen in den Lösungen von LiCl deckt sich, wie Heyrovský und seine Mitarbeiter bewiesen haben, fast vollkommen mit der Reduktion der Aldehyde. M. Shikata und K. Shoji haben gefunden, daß der Reiswein Sake, Würze von der Soya und „Shoyu" 5 Stoffe enthalten, die einer Reduktion fähig sind. Bier enthält 3 solche Stoffe, käuflicher Äthylalkohol 2. Von diesen Stoffen wurden zwei leicht flüchtige als Azetaldehyd und Fural identifiziert, einer, der weniger flüchtig ist, als aromatischer Aldehyd, die letzten zwei konnten nicht bestimmt werden.

Diese Erscheinung ist für unsere Versuche nicht wichtig. Es handelt sich nicht nur darum, die Hauptprodukte festzustellen, sondern auch Zwischenprodukte, die gerade für die Mikroben charakteristisch sind. Man kann hoffen, daß die Mikroben durch ihre Polarisationskurve charakterisierbar werden.



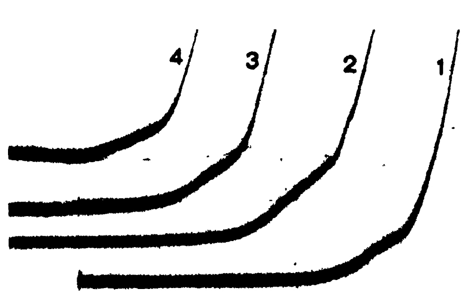


Abb. 1. Abb. 2.

Abb. 1. Wenn wir zu n/10 LiCl sukzessive die Saccharoselösung, in der B. coli kultiviert wurde, zugeben, steigt die sog. polarographische Kurve; d. i. die Höhen der einzelnen Kurven, von der ersten angefangen, sind sukzessiv größer (von der Abszisse gemessen). Die Höhe der Kurven bedeutet nämlich die Menge der gebildeten Abbauprodukte in der Kultur.

Kurve 1. Zu 10 ccm n/20 LiCl wurde 1 ccm n/20 der obenerwähnten Lösung zugegeben.

Kurve 2. Zu 10 ccm n/20 LiCl wurde 0,75 ccm n/20 der obenerwähnten Lösung zugegeben.

Kurve 3. Zu 10 ccm n/20 LiCl wurde 0,50 ccm n/20 der obenerwähnten Lösung zugegeben.

Empfindlichkeit des Galvanometers $^{1}/_{300}$; Akkumulator 4 Volt.

Abb. 2. B. anthracoides wird in seiner Spaltungstätigkeit durch B. coli gehemmt. Wenn wir die Höhen der Kurven 1 und 3 vergleichen, sehen wir zwischen denselben einen auffallenden Unterschied. Reinkulturen enthalten mehr Abbauprodukte als die Mischkulturen. Das ist an der Höhe der Kurven sichtbar (von der Abszisse gemessen); die Höhen der Reinkulturen sind nämlich größer als die Höhen der Mischkulturen.

Kurve 1. Reinkulturflüssigkeit von B. coli.

Kurve 2. Reinkulturflüssigkeit von B. anthracoides.

Kurve 3. Mischkultur der beiden.

Kurve 4. Mischkultur der beiden nach Zugabe von 1 ccm n/10 LiOH (um saure Stoffe festzustellen).

Empfindlichkeit des Galvanometers $^{1}/_{300}$, Akkumulator 4 Volt.

Unsere Methode war die folgende: Das Medium, enthaltend n/20 Saccharose Merck, wurde mit Bakterienkulturen geimpft und zwar so, daß eine Serie B. coli, die zweite ein anderes Bakterium, die dritte die Misch-

kultur der beiden enthielt. Die vierte Serie blieb ungeimpft als Kontrolle. Durch die polarographische Methode wurde die Spaltung der Saccharose unter denselben Bedingungen studiert und die Resultate verglichen. Man muß in Betracht ziehen, daß die Saccharose bei der Sterilisation im Autoklav sich etwas zersetzt, und daß die Spaltungsprodukte weiter durch die Bakterien verarbeitet werden. F. Lieben und L. Löwe und Horwath untersuchten die Zuckerspaltung durch B. coli, B. vulgare und B. prodigiosum mit Hilfe der üblichen chemischen Methoden und ihre Resultate gleichen den unsrigen, die durch die polarographische Methode gewonnen wurden. Eine vollständigere Zusammenfassung der Literatur wird von J. Babička und J. Heyrovský gegeben. Eine

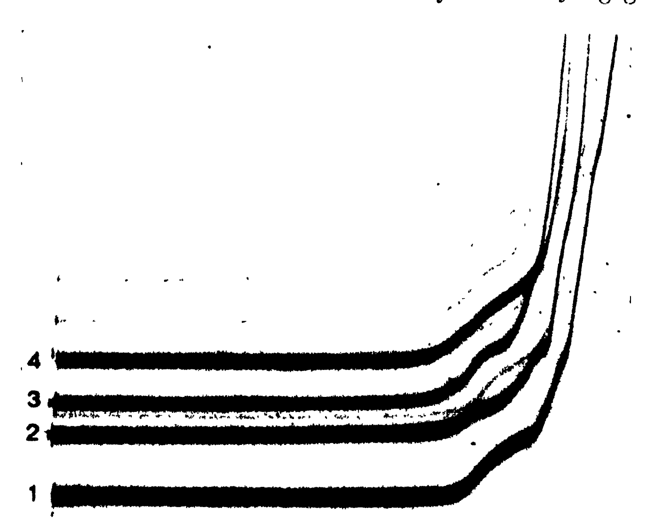


Abb. 3. Saccharoselösung n/20 wurde mit B. coli und Sarcina lutea beimpft.

Kurve 1. 10 ccm der Saccharoselösung in der S. lutea kultiviert wurde.

Kurve 2. 5 ccm der Saccharoselösung, in der S. lutea kultiviert wurde und 5 ccm der Saccharoselösung, in der B. coli kultiviert wurde.

Kurve 3. 10 ccm der Saccharoselösung, in der Mischkultur, in der beide kultiviert wurden.

Kurve 4. 10 ccm der Saccharoselösung, in der B. coli kultiviert wurde.

Empfindlichkeit des Galvanometers $^1/_{300}$; Akkumulator 4 Volt.

Auf diesem Bild ist erkenntlich, das B. coli die Saccharose intensiver zersetzt als die S. lutea; seine Kurve ist nämlich höher als die der S. lutea. Die Mischkultur gibt eine Kurve, die niedriger ist als die Kurve der Coli-Reinkultur.

genaue Beschreibung der polarographischen Methode findet sich bei S. Prát, G. Semerano, W. Kemula; hier sei nur kurz erläutert, worin diese neue Methode besteht:

Die zu analysierende Lösung befindet sich in einem kleinen elektrolytischen Gefäße, dessen beide Elektroden aus Quecksilber bestehen. Anode ist eine Quecksilberschicht auf dem Grunde des Gefäßes, als Kathode dienen Quecksilbertropfen, die in die Lösung aus einer engen Kapillare in regelmäßigen, 2—3 Sek. dauernden Intervallen fallen. Nun wird die Spannung an den Elektroden automatisch vergrößert, indem sie durch Gleiten eines Kontaktes über einen Widerstandsdraht von 2—4 Volt Akkumulator abgezweigt wird. Die beiden Enden des Widerstandsdrahtes, der in 20 Windungen auf einem Rade aus nichtleitendem Material befestigt ist, sind mit den Polen des Akkumulators verbunden. Das Rad wird durch ein Uhrwerk oder Elektro-

motor in langsame Bewegung gesetzt. Eine seiner Umdrehungen entspricht dann dem Zuwachs der polarisierenden Spannung um 100 bzw. 200 Millivolt. Sobald die Spannung einen gewissen, für jeden Stoff charakteristischen Wert erreicht hat, beginnt auf der Kathode ein bestimmter elektrolytischer Prozeß sich abzuspielen. Dabei wächst die Intensität des Stromes an. Die Intensität des Stromes wird mittels eines Galvanometers (10^{-8} bis 10^{-9} Amp. per mm/m) auf dem photographischen Papier durch einen vom Galvanometerspiegel reflektierten Lichtstrahl registriert. Derselbe zeichnet eine Kurve, welche die Abhängigkeit des entstandenen Stromes von der äußeren elektromotorischen Kraft veranschaulicht.

Aus den Kurven erkennen wir, welche Stoffe sich in der Lösung befinden und in welchen Mengen sie vorhanden sind. Die Kurven auf den Polarogrammen repräsentieren die Abhängigkeit der Intensitat des Stromes, der bei der Elektrolyse durch die Lösung geht, von der applizierten elektromotorischen Kraft.

Die Ordinaten veranschaulichen uns die Werte der Intensität des Stromes und die Abszissen die Stromspannung, und zwar jede Linie 100—200 Millivolt. Dadurch können wir aus dem Polarogramm heraus lesen, bei welcher Spannung sich dieser oder jener Vorgang abspielt.

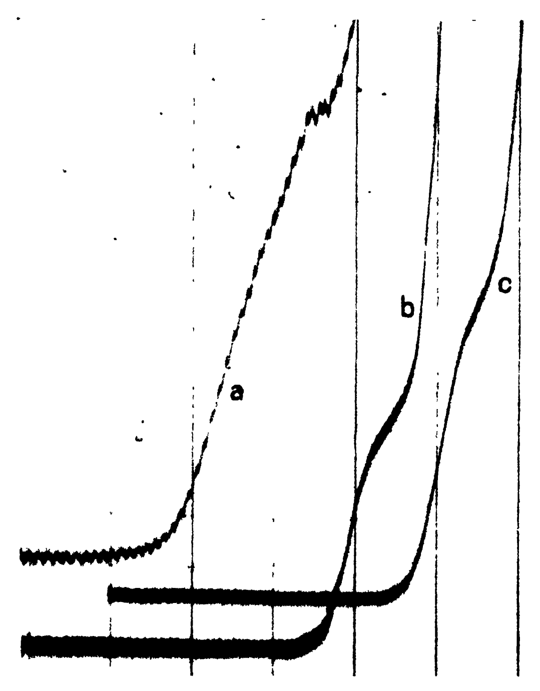


Abb. 4. Saccharoselösung (n/20) wurde mit B. coli und B. prodigiosum beimpft. In diesem Falle sehen wir erstens verschiedene Mengen der gebildeten Abbauprodukte, was an den Höhen der Kurven erkennbar ist. Die Kurven unterscheiden sich aber voneinander auch durch ihre Form. Das ist ein Beweis dafür, daß die Abbauprodukte sich nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ voneinander unterscheiden.

Kurve a. Saccharoselösung, in der eine Mischkultur von B. coli und B. prodigiosum kultiviert wurde. — Kurve b. Saccharoselösung, in der nur B. coli kultiviert wurde. — Kurve c. Saccharoselösung, in der nur B. prodigiosum kultiviert wurde. — Empfindlichkeit des Galvanometers $^1/_{300}$; Akkumulator 4 Volt.

Die Bedeutung unserer Arbeit liegt vor allem darin, daß sie einen Beitrag zur Diagnostik darstellt. Chemische Fähigkeiten der Bakterien sind bekanntlich gute diagnostische Mittel in der Systematik. Heyrovskýs polarographische Methode ist erstens sehr genau und präzis und zweitens ermöglicht sie uns, alle Phasen der chemischen Prozesse zu erkennen. Die polarographische Kurve ist sozusagen Photographie der Tätigkeit des Mikroben unter gegebenen Bedingungen, und man kann erwarten, daß dieses Bild sich von dem Bilde anderer Bakterien unterscheiden wird.

Das zweite Problem, das sich mittels der Methode studieren läßt, ist das Problem des bakteriellen Synergismus in den Mischkulturen oder wie W. L. Holman sagt, in den bakteriellen „Associations". Die Verhältnisse der Bakterien zueinander in der Mischkultur sind sehr kompliziert. Die Resultate sind keinesfalls einfach additiv. Man muß erkennen, daß Mischkultur den natürlichen Verhältnissen eher entspricht und daß die Reinkultur etwas künstliches darstellt. Dieser Umstand ist be-

sonders in der medizinischen Bakteriologie wichtig, denn hier spielen die bakteriellen „Associations“ eine wichtigere Rolle als die Reinkulturen. Um ein Beispiel zu geben, daß die chemischen Wirkungen der Mischkulturen von denen der Komponenten verschieden sind, zitieren wir nur das Theobald und D. E. Smiths „Phenomenon“, wo B. paratyphosus B. unter gewissen Umständen den B. coli in seiner Gasbildung hindert. Die neuere Literatur über die bakteriellen „Associations“ findet man in E. O. Jordans und J. S. Falks Lehrbuch. Mit den chemischen Fähigkeiten des B. coli beschäftigt sich M. Stephenson.

Zusammenfassung.

1. Stoffe, die durch Mikrobentätigkeit in der Saccharoselösung entstehen, lassen sich durch die polarographische Methode schon in Spuren der Ordnung 10^{-6} Gramequivalent in 1 l mit der Genauigkeit 10—2% feststellen.

2. Produkte, die in den Reinkulturen entstehen, unterscheiden sich von jenen, die in Mischkulturen gebildet werden.

3. B. coli unterdrückt die Tätigkeit des B. anthracoides.

4. B. coli verträgt die Anwesenheit der Sarcina lutea, aber seine Produkte unterscheiden sich von denen, die B. coli in Reinkultur bildet.

5. B. coli und B. prodigiosum in der Mischkultur bilden mehr Spaltungsprodukte als in der Reinkultur.

Literatur.

1. Babička, J., Použití analysy se rtutovou kapkovou kathodou ke stanovení proteinů. (Rozpravy 2 tř. Čes. Akadem. Bd. 40. 1930. Nr. 38.) — 2. Heyrovský, J., Redukce kysliku na rtutové kapkové kathodě. (Časop. čsl. lekár. Bd. 7. 1927. S. 242.) — 3. Heyrovský, J., Smoler, I. und Šťastný, J., Výzkum octů methodou polarografickou se rtutovou kapkovou kathodou. (Věst. čsl. Akad. zeměd. Bd. 6. 1930. S. 490.) — 4. Heyrovský, J. und Smoler, I., The electroreduction and estimation of fructose and sorbose. (Collect. of Czechosl. Chemical Communications. Vol. 4. 1932. p. 521.) — 5. Holman, W. L., Bacterial associations (in E. O. Jordans und I. S. Falk, The newer knowledge of bacteriology. Chicago 1928). — 6. Kemula, W., Über Heyrovskýs elektroanalytische polarographische Methode. (Ztschr. f. Elektromech. Nr. 10. 1931. S. 779.) — 7. Lieben, Fr. und Löwe, L., Über den Abbau von Glukose, Fruktose und Glukosamin. (Biochem. Ztschr. Bd. 70. 1932. S. 252.) — 8. Prát, S., Die Anwendung der polarographischen Methodik in der Biologie. (Biochem. Ztschr. Bd. 175. 1926. S. 268.) — Ders., Die polarographische Methode. (Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abderhalden. Abt. 3. A. 2. 1928. S. 1413.) — 9. Semerano, G., Il polarografo, sua teoria e applicazioni. Padova 1932. — 10. Shikata, M., and Shoji, K., Application to the microanalysis of reducible substances in fermentation products. (Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ. Nr. 4. 1932. p. 75.) — 11. Smoler, I., The reduction of acetaldehyde. (Collect. of Czechoslovak Chemical Communications. Vol. 16. 1930. p. 699.) — 12. Stephenson, M., Bacterial metabolism. London 1930.

Parasitic and other Fusaria Counted in Colombia Soils.

By **Otto A. Reinking** and **Marshall M. Manns.**

Introduction.

An understanding of the distribution of fusaria under various soil conditions is essential for the formulation of control measures to be practiced for fusaria wilt diseases (5, 6). Prior studies (1, 2, 3, 4, 7) have shown that many fusaria are widely distributed in the lowland regions of the Republic of Honduras, Central America, and on the Island of Jamaica, these being found on host plants and in the soil. A recent study (4) on the counts of parasitic and saprophytic fusaria in tropical soils has shown the importance of this knowledge for control measures to be practiced against the wilt disease of bananas caused by Fusarium oxysporum f. 3, and undoubtedly gives a better understanding for control of fusaria wilt diseases in general. In this study it was shown that certain fusaria are commonly found in all soils or many different soils and that other fusaria are found only occasionally under various soil conditions. The fusarium causing banana wilt was found to be present only in the soil about a diseased plant and never in the soil about healthy banana plants or in soils virgin to banana culture. These studies would indicate that there are distinct soil fusaria commonly present in soils independent of flora, and soil invading fusaria that are only present in soils about their host plants.

The investigations on soil fusaria in the banana lowlands of the Republics of Honduras and Guatemala were extended to include a study of soil fusaria in the banana regions of the Republics of Colombia, Panama, and Costa Rica. A detailed study of the presence or absence of fusaria in these various soils and climatic conditions will give a clearer understanding of the relationship of fusaria to their respective disease production.

The object of the present investigation was to determine the counts of parasitic and saphropytic fusaria in the region of banana soils in the Republic of Colombia. The studies were conducted from October, 1930 to November, 1932. All soil samples were collected in the semi-arid banana region extending back from Santa Marta, Colombia.

Description and Classification of Areas Sampled[1]).

A general description and location of the soil-type areas discussed in this report is as follows:

Florida Series. — These soils are characterized by a dark, coffee brown to black color and hard, compact structure when dry. The clays have a very low degree of granulation and are dense, compact, and impervious to water. On drying the surface takes on a dull grey color with a glistening reflection of sunlight which is caused by the presence of large quantities of mica. The presence of plate-like mica particles and high content of sodium are the two chief factors causing a poorly aerated and extremely plastic condition of Florida soils.

Tucurinca Series. — The soils in this series vary in color from blue to grey and grey mottled to a rich brown and sometimes black, depending to some extent upon the drainage conditions. The clays of this group are extremely plastic and have practically no granulation, especially where "crude structure" is caused by high sand

[1]) The writers are indebted to W. W. Pate, G. W. Volk, and M. H. Gallatin, soil chemists of the United Fruit Company at Tela, Honduras, for the descriptions and analyses of soils herein reported.

and clay contents with little silt to impart mellowness. Considerable mica is present, but does not dominate the structure as seriously as it does in Florida Series. The clay occurs in numerous places as small local areas, each differing somewhat from the other, so that it is almost impossible to describe a typical profile for the series. The pH values of the heavier clays are approximately neutral, averaging about pH 7.0

Santana Series. — These soils are composed largely of deposits from the Fundacion River and in most instances are a grey, grey mottled or dingy brown color. In general the Santana clays are found away from the Fundacion River and the lighter textured soils along its banks. A general description of the profile is compact, plastic, grey to greyish mottled heavy clay which extends for forty inches or more in depth. The heavy clays average about pH 6.0 and the lighter about pH 6.5.

Meteorological Data.

Table 1 gives the average temperature and relative humidity readings for the banana zone from Rio Frio to Aracataca, Colombia.

Table 1. — Meteorological Record.

Year	Average rainfall Inches	Maximum temperature	Minimum temperature	Relative humidity
1930	29.21	95	64	85
1929	44.01	96	64	84
1928	48.75	97	65	85
1927	62.78	97	69	88
1926	51.23	95	68	86
1925	37.12	95	63	83
1924	76.78	94	57	—
1923	21.11	95	63	—
1922	38.07	—	—	—
1921	39.56	—	—	—
1920	31.95	—	—	—
1919	46.46	—	—	—
1918	32.96	—	—	—
1917	72.19	—	—	—
1916	91.92	—	—	—
1915	53.78	—	—	—
1914	28.29	—	—	—
1913	40.02	—	—	—
1912	36.46	—	—	—
1911	39.10	—	—	—
1910	57.83	—	—	—
1909	71.41	—	—	—

Temperature and Relative Humidity records not available for years left blank.

Temperature and Relative Humidity readings are average for banana zone from Rio Frio to Aracataca, Santa Marta town not included.

Data secured from the office of the Superintendent of Agriculture, Santa Marta, Colombia, May 8, 1931.

Method of Sampling.

The soil samples used for fusaria isolations were collected for soil studies by soil chemists, a composite of the top six inches being taken and placed in canvas sacks. They were collected between October 20 and November 30, 1930 and were sent from Colombia to Tela, Honduras where all fungus isolations were conducted. These isolations were carried on between January 2 and 10, 1931 on a total of two hundred and four samples collected from representative soils in the entire banana region in Colombia. The majority of the samples were taken from soils in banana culture. While these samples

were not obtained primarily for pathological purposes, they were kept free from contamination with sources outside of Colombia and thus were of sufficient usefulness to give a detailed idea of the presence and distribution of the various fusaria species. The counts as given were obtained from isolations from a mixture of the top six inches of soil. A surface sample probably would have shown a larger average number of fusaria.

Method of Plating.

Throughout the work the dilution method was used giving a dilution of 1/100, 1/1000, and 1/10,000. Platings were made in duplicate for each dilution. The method employed is fully discussed in another detailed account (4). In conducting the studies with the above dilutions it was found that the 1/1000 and the 1/10,000 dilutions were in general too great in order to obtain an accurate comparative count of the fusaria present. The counts given in the present investigation were obtained primarily from the 1/100 dilution, but in some cases also from the 1/1000 dilution. Plates were kept at room temperature for three to four days and then examined and all fusaria were isolated and purified for identification. The numbers of fungi determined in all soil types were calculated on the basis of air dried soils.

Media Used.

The media used in the investigation was ordinary acidified potato dextrose agar made according to the following formula:

Peeled, sliced potatoes (old)	200 gms.
Dextrose	15 ,,
Agar Agar	25 ,,
Tap water	1000 cc.

The potatoes were peeled, sliced fairly thin, and then brought to a boil in the full amount of water required. Boiling was continued until the slices of potatoes were soft. The liquid was then strained through cotton cloth and placed in Erlenmeyer flasks in liter lots and sterilized. To inhibit bacteria a 25 per cent solution of lactic acid was used, one drop of approximately $^1/_{20}$ of 1 cc. being placed in each dilution plate and in the agar plates at the time the fusaria were being freed from contaminations. The pH of the acidified potato dextrose agar used for isolations ranged between 4.0 to 4.5.

Investigations and results.

Fusaria Isolated.

In conducting the soil isolations, according to the method described above, all fusaria that grew in the plates were transferred to tubes in order to obtain counts and final determinations. Table 2 gives the systematic arrangement of the fifteen different fusaria that were isolated from the areas sampled.

The identifications of the organisms were made in Tela, Honduras. Type cultures, however, were verified by the senior author by comparison and study with cultures in the mycological laboratories of the Biologischen Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany[1]). The systematic arrangement and nomenclature of the fusaria types listed is according to the revised classification by Wollenweber (9). Earlier investigations were found helpful in these identifications (3, 7, 8).

---

[1]) The writers are indebted to O. Appel, Director of the Station, and to H. W. Wollenweber for providing facilities and for valuable assistance in these studies.

Table 2. — Systematic Arrangement of Fusaria isolated.

I. Section Eupionnotes.
Chlamydospora:
1. Fusarium dimorum.

III. Section Sporotrichiella:
2. Fusarium chlamydosporum.

V. Section Arthrosporiella:
3. Fusarium semitectum.

VI. Section Gibbosum:
4. Fusarium equiseti var. bullatum.
5. Fusarium scirpi.
6. Fusarium scirpi var. caudatum.

VIII. Section Liseola:
7. Fusarium moniliforme.

XIII. Section Elegans.
Orthocera:
8. Fusarium orthoceras.
9. Fusarium orthoceras var. triseptatum.
Constrictum:
10. Fusarium bulbigenum.
Oxysporum:
11. Fusarium oxysporum.
12. Fusarium oxysporum f. 5.

XV. Section Martiella:
13. Fusarium solani var. minus.
14. Fusarium solani var. martii f. 1.
15. Fusarium javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae).

Table 3 gives the distribution and number of fusaria, per gram of soil, isolated from the various soils. Table 4 shows the per cent of isolations of each fungus out of the total fusaria isolated indicating the relative abundance of each. A study of these tables shows that certain fusaria were present in practically all soil types investigated, while others were found only in certain soils. This would indicate that some are distinct soil organisms while others are merely soil invaders.

Discussion of results.

Fusaria isolations were conducted from various soil types ranging from sandy loams to clays in three distinct soil series in the banana region near Santa Marta, Colombia. This region has a semi-arid climate with a rainfall of 21 to 92 inches during the year. A distinct hot, dry season, with an average maximum temperature of 95° F., is characteristic.

Practically all soil samples investigated were from areas planted to bananas. The fusaria flora may have been influenced by this culture. Isolations were conducted from two hundred and four different soil samples representative of the various soil types in each soil series. The samples of soil from which isolations were conducted consisted of the top six inches of soil. A surface sample, however, would probably have shown a larger average number of fusaria. While these soil samples were not collected primarily for pathological purposes, they were kept free from contamination

Table 3. — Counts

Name of Organism	Florida Series					
	SL	FSL	VFSL	SCL	CL	C
F. dimerum	—	100	—	2000	—	—
F. chlamydosporum	—	100—1000	—	100—1000	—	100
F. semitectum	—	1000	—	1000	—	—
F. equiseti var. bullatum	—	100—1000	—	100—2000	1000	100—1000
F. scirpi	—	100—1000	—	100—1000	—	—
F. scirpi var. caudatum	—	—	—	100—1000	—	100
F. moniliforme	—	—	—	—	—	—
F. orthoceras	—	—	—	—	—	—
F. orthoceras var. triseptatum	100	—	—	—	—	—
F. bulbigenum	—	100—2000	—	100—1000	—	1000
F. oxysporum	—	—	—	1000	—	—
F. oxysporum f. 5	100	100—5000	—	100—1000	—	—
F. solani var. minus	—	100	—	—	—	1000
F. solani var. martii f. 1	100—2000	100—2000	100	100 3000	100—	100—200
F. javanicum var. theobromae	—	—	—	—	—	100

Table 4. — Relative Abundance of Fusaria isolated.

Name of organism	Per cent of total isolations
F. dimerum	1.3
F. chlamydosporum	8.9
F. semitectum	.7
F. equiseti var. bullatum	14.7
F. scirpi	12.4
F. scirpi var. caudatum	1.3
F. moniliforme	.2
F. orthoceras	.3
F. orthoceras var. triseptatum	.2
F. bulbigenum	5.2
F. oxysporum	.2
F. oxysporum f. 5	3.5
F. solani var. minus	1.2
F. solani var. martii f. 1	49.7
F. javanicum var. theobromae	.2

with sources outside of Colombia and we believe the isolations give a good idea of the relative abundance of the various fusaria isolated.

Fifteen different fusaria, fairly representative of the entire group, were isolated from the soils investigated. Of the total number of fusaria isolated, 49.7% were of F. solani var. martii f. 1. The next most common fusarium was F. equiseti var. bullatum which was found at the

of Fusaria per Gram of Soil.

Santana Series					Tucurinca Series						
SL	FSL	SCL	C	C+	SL	FSL	VFSL	SCL	CL	C	C+
—	—	—	200—1000	—	—	1000	—	—	—	—	—
400—1000	100	100—1000	100—1000	—	—	—	200	1000—3000	100	400—2000	—
—	—	—	100	—	100	100	—	—	—	—	—
—	2100	900—2000	100—200	100	100—1000	100—1000	1000	1000—3000	—	100—1000	—
—	200—2000	100—600	100—200	100	100	100—1000	—	200—3000	100—1000	100—1200	—
—	4000	—	—	—	—	1000	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	100	—	—	—
—	—	200	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	100	100	—	—	100—300	—	1000	300	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	100	100	—	—	—	—	—	1000	—	—	—
—	500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5000	200—4000	100—1000	100—2000	500—1000	100	100—1000	—	100—7000	4000	100—1000	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

rate of 14.7% of the total isolations. F. scirpi was next in abundance at the rate of 12.4% of the total with Fusarium chlamydosporum at 8.9%, F. bulbigenum at 5.2%, and F. oxysporum f. 5 at 3.5%. Judging from their wide distribution and great abundance apparently these fusaria are soil organisms. The following organisms were not found in such great abundance or with such a wide distribution: F. dimerum, F. semitectum, F. scirpi var. caudatum, F. moniliforme, F. orthoceras, F. orthoceras var. triseptatum, F. oxysporum, F. solani var. minus, and F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae). These latter fungi were probably mere soil invaders with the possible exception of the first three.

F. solani var. martii f. 1 is a distinct soil fungus, being widely distributed throughout all tropical soils investigated (4). F. equiseti var. bullatum is probably a soil fungus, being generally found in tropical soils. It also is commonly found on dead banana parts and its abundance in the soil of banana plantations may be partially due to the fact that the banana is a saprophytic host. Fusarium chlamydosporum was not generally found in all Honduras soils (4), but evidently is more common in the Colombia soils. In general, however, those fungi found to be most abundant in Honduras soils (4) also were found most commonly in the Colombia soils. Fusarium dimerum and Fusarium moniliforme were exceptions as they were found commonly in Honduras soils, but rarely isolated in the Colombia soils.

It will be noted that F. oxysporum f. 3, the cause of banana wilt, was not isolated. No banana wilt disease is present in the banana region near Santa Marta, Colombia which would account for the absence of the causal organism. The studies further verify the findings in Honduras and Guatemala (4) to the effect that the banana wilt organism is not present in soils in which no diseased bananas had been growing.

Both Fusarium bulbigenum and Fusarium oxysporum f. 5 were found in moderate abundance in the Colombia soils. The original type of these organisms have been proved to be pathogenic in the regions from which they were described, but those isolated in tropical soils may not be the true pathogenic forms, although morphologically no differences can be distinguished. Inoculation experiments would have to be conducted in order to definitely settle this point.

Different numbers of isolations were made from the various soil types in each soil area. An accurate correlation between the number of fusaria and the soil type, therefore, cannot be obtained from the figures as presented. The tendency, however, appears to be that larger numbers of fungi in general are found in the lighter textured soils than in the heavier textured soils.

Summary and conclusions.

1. Fusaria isolations were conducted from various soil types ranging from sandy loams to clays in three distinct soil series in the semi-arid Santa Marta, Colombia banana region.

2. Practically all of the two hundred and four different soil samples examined were from areas planted to bananas. The fusaria flora may have been influenced by this culture.

3. Although the soil samples were collected for soil analyses and not primarily for pathological purposes, they were kept free from contamination with sources outside of Colombia. All isolations give a good idea of the relative abundance of the various fusaria isolated.

4. Fifteen different fusaria fairly representative of the entire group of fusaria were isolated from the soils investigated. Some had a wide distribution and have been considered as soil fungi; others were not found in such great abundance or with such a wide distribution and have been regarded as mere soil invaders.

5. In general those fusaria found to be most common in Honduras soils were found also most abundant in the Colombia soils. Fusarium chlamydosporum was found less frequently in Honduras soils and F. dimerum and F. moniliforme were found to be more common in Honduras soils.

6. Fusarium oxysporum f. 3, the cause of banana wilt, was not isolated from the Colombia soils. No banana wilt disease has been found in the Santa Marta, Colombia region. The studies further verify the findings in Honduras and Guatemala to the effect that the banana wilt organism is not present in soils in which no diseased bananas had been growing.

7. Because different numbers of isolations were made from each soil type, no accurate correlation between the number of fusaria and the soil type can be obtained from the figures as presented. It appears that larger numbers of each fungus in general are found in the lighter textured soils.

Literature.

(1) Hansford, C. G., The fusaria of Jamaica. (Kew Bull. Misc. Inf. 1926.) — (2) Reinking, O. A., Fusaria inoculation experiments. (Phytopathology. Vol. 16. 1926. p. 371—392.) — (3) Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical fusaria. (Philippine Journ. of Sci. Vol. 32. 1927. p. 103—253.) — (4) Reinking, Otto A., and Manns, Marshall M., Parasitic and other fusaria counted in tropical soils. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 6. 1933. S. 23—75.) — (5) Russel, E. John, The micro-organisms of the soil. (The Rothamsted Monographs on Agr. Sci. 1923. pp. 118—146, 164, 179.) — (6) Waksmann, Selman A., Principles of soil microbiology. Williams and Williams. 1927. S. 236--284; 619—647; 708—833. — (7) Wollenweber, H. W., and Reinking, O. A., Aliquot fusaria. tropicalia nova vel revisa. (Phytopathology. Vol. 15. 1925. p. 155—169.) — (8) Wollenweber, H. W., Sherbakoff, C. D., Reinking, O. A., Johann, H., and Bailey, A. A., Fundamentals for taxonomic studies of Fusaria. Journ. Agr. Res. Vol. 30. 1925. S. 837—843.) — (9) Wollenweber, H. W., Fusaria monographic. Fungi parasitici et saprophytici. (Ztschr. f. Parasitenkunde. Bd. 3. 1931. S. 269—516.)

Interesting New Fusaria.

By **Otto A. Reinking.**

With 4 figures in the text.

Introduction.

It is interesting to note that many of the common fusaria present on plants and in the soil of the temperate zone are distributed in the tropical regions (1), (2), (3), (4), (5), (6). Further studies undoubtedly will bring this fact out more clearly. In the present article interesting new fusaria from the Caribbean region and from South America are described.

One new variety was isolated from a particular soil type in Honduras, Central America. The type species, Fusarium tumidum, had been reported from only one other source. that being on Cytisus (Sarothamnus) scoparius collected in the Polenzthal, Saxony, Germany (4), (6). The isolation of a new variety of this type organism is extremely interesting and shows that exhaustive studies have not been made in all parts of the world. As more systematic studies are made it possibly will be shown that many of the fusaria are world wide in their distribution.

Two other new and interesting species were found. These include fusaria that are border line.or connecting species between the present established fusaria sections. Fusarium elongatum and Fusarium sublunatum both produce terminal and intercalary chlamydospores in abundance and produce few or no microconidia. If we attempt to include these organisms in the present fusarium classification we find that the presence of one or more characters exclude them from the present grouping. The lack of microconidia and the spore form and character exclude them from Elegans and Martiella. The presence of terminal chlamydospores exclude them from sections Lateritium and Discolor. The presence of chlamydospores exclude them from section Macroconia. Apparently the organisms are border line or overlapping species between sections Eupionnotes and Macroconia. They more nearly resemble those in section Macroconia. At present the latter section only includes fusaria without chlamydospores.

It seems advisable, therefore, that a revision of the key to the sections be made. Such a change had been suggested by Wollenweber (6) in his discussion of Fusarium expansum.

Fusarium concolor also is a border line species that for the present has been placed under sub-section Orthocera in section Elegans. It, however, has characters approaching those found in section Liseola and in certain instances in section Arthrosporiella. The chief distinguishing characters are such that the organism can be placed in section Elegans.

Further systematic investigations and isolations conducted in South America and in the tropics in general may show the presence of other interesting overlapping types of fusaria. The studies thus far conducted in the tropics would lead one to believe that further exhaustive investigations are necessary in order to round out our knowledge of fusaria. Such studies undoubtedly would make it possible to complete the systematic picture of the present well classified fusaria species.

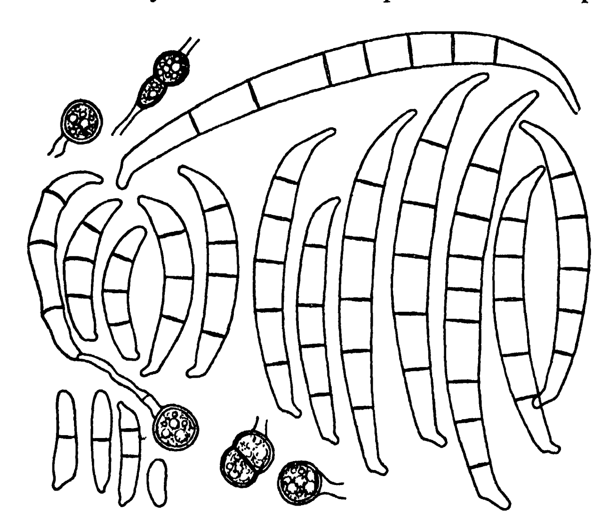


Fig. 1. Fusarium sublunatum n. sp., conidia from pionnotes of single spore cultures, 11 to 30 days old on potato dextrose agar and Lupinus stem. Chlamydospores from mycelium of 60-day-old culture on potato dextrose agar and from conidia of 130-day-old culture on potato dextrose agar (1 : 665).

The present studies were conducted from December 1930 to November 1932 in Honduras, Costa Rica and Panama, Central America and in 1933 in Berlin, Germany. Type fusaria cultures were studied at the Biologische Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany. The writer is indebted to H. W. Wollenweber for valuable assistance in these latter studies. Pure cultures of the fusaria have been deposited with the Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland.

Descriptions of new species and varieties.

Fusarium sublunatum n. sp. (Fig. 1).

Mycelium aërium vulgo abest vel sparsum albidum. Stroma rigidum plectenchymicum pallido-cinnabarinum, sicco vinaceum, sclerotiis intertextis sordide atro-olivaceum plus minusve pionnote conidiorum tegitur salmonea, isabellina vel coloribus stromatis sclerotialis sordescente.

Conidia fusiformi-falcata, ad apicem constricta, basi pedicellata, 5—(3—5—)—, raro 0—2—, 6—8—septata:

0-sept.	13 × 3.8	plerumque	10—16 × 3.5—4.0 μ		
1-sept.	23 × 4.0	,,	22—25 × 3.8—4.1	(20—29 × 3.5—4.5)	1%
2-sept.	21 × 3.7	,,	18—27 × 2.8—4.8		—
3-sept.	37 × 5.0	,,	26—44 × 4.5—5.8		18%
4-sept.	43 × 5.4	,,	42—45 × 5.3—5.5	(36—77 × 5.0—7.0)	16%

5-sept.	56×5.9	plerumque	48—66×5.5—6.9	(41—81×4.8—7.5)	62%
6-sept.	63×5.9	,,	60—66×5.8—6.2	(49—68×5.3—6.8)	2%
7-sept.	69×5.9	,,	68—69×5.8—6.0	(66—90×5.8—6.8)	1%
8-sept.	81×6.8	,,	81—81×6.8—6.8		—

Chlamydosporae numerosae, terminales et intercalares, globosae, glabrae, continuae 8 × 8 (7—9) μ, vel 1-septatae 13 × 9 (9—15 × 7—9) μ. Sclerotia globosa, singula v. gregaria, rugulosa, sordide atro-olivacea, 0,25 —0,5 mm diam.

Habitat in humo superficiali plantarium Musae sapientium et Theobromae cacao, Limon in Costa Rica et Almirante in Panama Americae cent'alis (leg. O. A. Reinking, Aprili 1932).

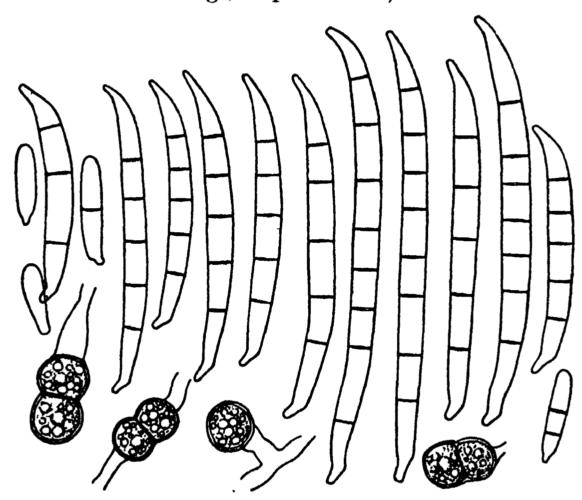


Fig. 2. Fusarium elongatum n. sp., conidia from dense pionnotes of single spore cultures, 11 to 30-day-old cultures on potato dextrose agar and Lupinus stem. Chlamydospores from mycelium of 122-day-old water culture (1 : 665).

Fusarium elongatum n. sp. (Fig. 2).

Mycelium aërium tenue album dein pro parte subincarnatum stroma sparsum tegit ochroleucum, rarius coeruleo-v. aerugineo-maculatum (reactione acida purpureum), sclerotiis e pallido atrocoeruleis globosis intertextum; conidiis in sporodochiis aut pionnote formatis in massa ex incarnato salmoneo-aurantiacis; microconidia rara 0—2-septata elongato-ellipsoidea, macroconidia 5— (3—5—), interdum singula 6—11-septata:

0-sept.	16×3.4	plerumque	14—19	×3.0—3.8 μ		
1-sept.	21×3.6	,,	19—24	×3.5—3.8		1%
2-sept.	22×3.4	,,	19—27	×3.0—3.8		2%
3-sept.	40×4.4	,,	37—43	×3.9—4.8	(33—47×3.8—5.8)	26%
4-sept.	48×5.0	,,	49—50	×5.0—5.1	(47—53×4.8—5.8)	20%
5-sept.	61×4.9	,,	44—72	×4.3—5.8	(43—78×3.8—6.0)	49%
6-sept.	77×5.0	,,	70—85	×4.5—5.5	(69—87×4.5—5.5)	2%
7-sept.	84×5.0	,,	81—87	×4.6—5.5	(80—89×4.3—5.8)	
8-sept.	88×4.9	,,	87—89	×4.8—5.0		
9-sept.	89×5.0	,,	89—89	×5.0—5.0		
11-sept.	116×5.0	,,	116—116	×5.0—5.0		

Chlamydosporae terminales et intercalares singulae, binae v. subcatenatae, globosae, glabrae, statu sicco plus minusve spinosae: continuae

9 × 8 (7—12 × 7—10), vel 1-septatae 13 × 8 (9—18 × 6—10) μ. Sclerotia globosa alia majora 0,25—1,5 mm diam., alia minora ad 0,2 mm diam. occurrunt vel interdum absunt.

Habitat in humo superficiali plantarium Musae sapientium et Theobromae cacao, Limon in Costa Rica Amer. centr. (leg. O. A. Reinking, Aprili 1932).

Fusarium concolor n. sp. (Fig. 3).

Mycelium aërium floccosum album aut albido-incarnatum stroma plus minusve plectenchymicum incarnatum vel pallido-aurantiacum tegit conidiis instratis interdum in massa gelatinosa incarnati coloris subpionnotali accumulatis, rarissime in sporodochiis formatis. Microconidia instrata numerosa fusoidea aut elongato-ellipsoidea, omnino recta, 0—1—(2—)-septata,

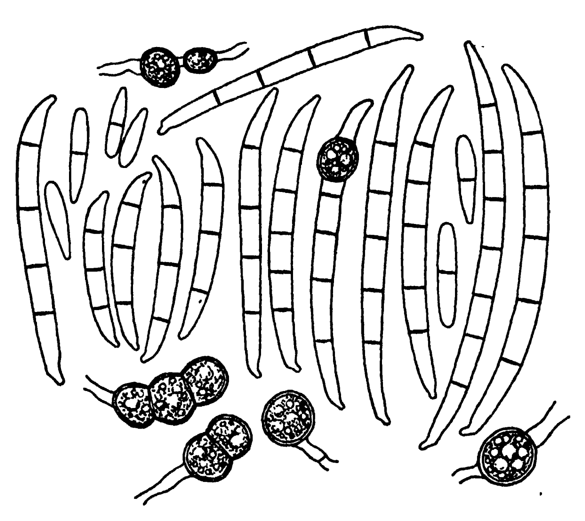


Fig. 3. Fusarium concolor n. sp., conidia from mycelium and thin pionnotes of 8 to 60-day-old cultures on potato dextrose agar, oat meal agar, Brown's agar and Laurus stem. The two longest conidia on extreme right from Brown's agar. Chlamydospores, except the one in a conidium, from mycelium of 8-day-old water culture (1 : 665).

macroconidia elongata fusiformi-subfalcata, leniter curvata, utrinque attenuata ad apicem constricta fere rostrata, basi subpedicellata, 3—5-, rarissime 6—7-septata:

0-sept.	13 × 3.0	plerumque	11—12 × 2.8—3.1	(10—16 × 2.5—3.3) μ	9%
1-sept.	20 × 3.4	,,	19—21 × 3.0—3.8	(13—30 × 2.5—4.3)	14%
2-sept.					3%
3-sept.	39 × 3.9	,,	31—51 × 3.6—4.0	(24—70 × 3.0—5.5)	30%
4-sept.	61 × 4.5	,,	57—64 × 4.4—4.5	(57—70 × 4.0—5.0)	29%
5-sept.	63 × 4.6	,,	50—69 × 4.3—5.1	(46—77 × 3.7—5.3)	14%
6-sept.	76 × 4.9	,,	74—79 × 4.5—5.3	(73—79 × 4.5—5.3)	1%
7-sept.	71 × 4.8	,,	68—74 × 4.5—5.0	(68—80 × 4.0—5.0)	

Chlamydosporae terminales vel intercalares, globosae, glabrae dein verrucosae, continuae 9 × 9 (7—12 × 7—11) μ, 1-septatae 14 × 9 (13—15 × 9—10) μ, interdum catenatae. Sclerotia absunt.

Habitat ad basim plantae aegrotae Hordei sativi, Montevideo in Uruguay Americae australis (leg. G. J. Fischer, Febr. 1927).

Obs. Fusario concolori sunt conidia longiora et crassiora quam Fusario conglutinanti v. majori cui ceterum non absimile.

Fusarium tumidum Sherb.[1]) var. humi n. v. (Fig. 4).

A typo recedit conidiis longioribus vulgo 3-septatis, in massa cremeis, nec incarnatis nec pallido-aurantiacis.

1-sept.	30 × 8.5 μ			1%
2-sept.	33 × 10.4	plerumque	28—37 × 10.3—10.5	—
3-sept.	42 × 8.8	,,	37—48 × 6.8—10.7 (28—52 × 6.0—12.0)	95%
4-sept.	49 × 8.6	,,	43—55 × 7.6—9.5 (43—56 × 7.3—9.5)	2%
5-sept.	51 × 8.9	,,	45—54 × 8.4—9.5 (40—67 × 7.5—12.5)	2%

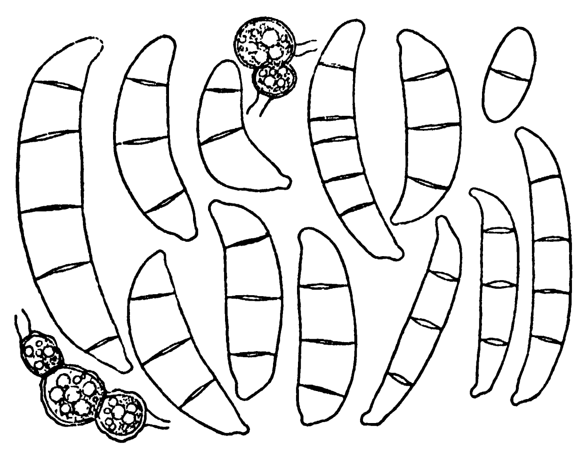


Fig. 4. Fusarium tumidum Sherb. var. humi n. v., conidia from pionnotes of 22 to 112-day-old cultures on potato dextrose agar, oat meal agar, Brown's agar and potato stem. The larger, more septate spores, not common. The three slender abnormal spores on the extreme right from an old dry culture 112 days old on potato dextrose agar. Chlamydospores from mycelium of 60-day-old potato dextrose agar culture (1 : 665).

Habitat: In humo, Honduras Americae centralis (leg. O. A. Reinking, Sept. 1931).

Zusammenfassung der Ergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit werden 4 neue Vertreter der Formgattung Fusarium der sog. "fungi imperfecti" beschrieben, nämlich Fusarium tumidum Sherb. var. humi, F. sublunatum, F. elongatum und F. concolor. Die 3 ersteren fanden sich in der Ackerkrume in Bananen- und Kakao-Plantagen Mittelamerikas, der letztere an fußkranker Gerste aus Uruguay, Südamerika. F. tumidum v. humi gehört der Gruppe Discolor an, während die anderen Pilze systematische Besonderheiten zeigen durch Übergangsmerkmale zwischen bekannten Fusarium-Gruppen wie Discolor, Macroconia, Elegans usw.

[1]) Sherbakoff, Phytopathology. Vol. 18. (1928.) p. 148. — Wollenweber, Fus. del. 950—952. — (Ztschr. Parasitenkd. Bd. 3. [1931.] S. 362.)

Literature cited.

1. Reinking, O. A., Fusaria inoculation experiments. (Phytopathology. Vol. 16. 1926. p. 371—392.) — 2. Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical Fusaria. (Philippine Journ. Sci. Vol. 32. 1927. p. 103—253.) — 3. Reinking, Otto A., and Manns, Marshall M., Parasitic and other Fusaria counted in Tropical Soils. (Ztschr. f. Parasitenkd. Bd. 6. 1933. S. 23—75.) — 4. Sherbakoff, C. D., Phytopathology. Vol. 18. (1928.) p. 148. — 5. Wollenweber, H. W., and Reinking, O. A., Aliquot fusaria tropicalia nova vel revisa. (Phytopathology. Vol. 15. 1925. p. 155—169.) — 6. Wollenweber, H. W., Fusaria-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. (Ztschr. f. Parasitenkd. Bd. 3. 1931. S. 269—516.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Pribram, E., Klassifikation der Schizomyceten (Bakterien), Versuch einer wissenschaftlichen Klassifikation der Bakterien auf botanischer Grundlage. Leipzig u. Wien (Verlag Fr. Deuticke) 1933. IV + 143 S. Preis geh. RM. 8.—, geb. RM. 10.—.

Wenn bei unseren derzeitigen, noch durchaus unvollkommenen Kenntnissen der Verwandtschaftsverhältnisse der niedrigsten pflanzlichen Lebewesen, der Bakterien, überhaupt jemandem das Recht zugesprochen werden kann, ein neues System der Bakterien aufzustellen, so dürfte es in erster Linie demjenigen zuerkannt werden, der, wie der Verf., seit vielen Jahren eine umfangreiche Sammlung von Reinkulturen dieser Mikroorganismen in seiner Obhut hält und demzufolge wahrscheinlich über eine sehr große Erfahrung verfügt. Man sieht deshalb diesem Wagnis von solcher Seite mit größerer Ruhe entgegen.

Es muß auch zugegeben werden, daß hier eine ganze Reihe brauchbarer Vorschläge für ein neues System gemacht werden.

Den bisherigen Klassifikationen fehlte nach Verf. „vor allem die klare Erfassung der Beziehung der Mikroorganismen zu Pflanzen und Tieren, ja es fehlte sogar die im Bewußtsein aller Menschen so klare — in der Grenzwissenschaft so verwischte — Grenzlinie zwischen Pflanzen- und Tierwelt".

Wie sich diese Pflanzen- und Tierwelt und vieles andere im Bewußtsein des Verf.s widerspiegeln, ist allerdings schwer wiederzugeben.

Funktion und Struktur der Pflanze werden nach Verf. wesentlich durch das Kohlehydrat bestimmt, während im tierischen Organismus das Eiweiß diese Rolle übernimmt. Der pflanzliche Organismus wächst zu Zellverbänden aus, „welche bei möglichst kleinem Volumen eine ganz außerordentlich große Oberfläche einnehmen", beim Tier werden aus dem Eiweißmolekül „Kolloide gebildet, mit der Eigenschaft, bei kleinstmöglicher äußerer Oberfläche ein möglichst großes Volumen einzunehmen (Kugelgestalt)". Dadurch soll beim Tier die höchste Raumökonomie gewährleistet sein „im charakteristischen Gegensatz zur Raumverschwendung im Aufbau des Pflanzenorganismus".

„Die Zellulose, als äußere Hülle Holz, gewährt der Pflanze Schutz gegen äußere Einflüsse", so heißt es an anderer Stelle und weiter „Die Vermehrung der Pflanze geschieht durch den Samen. Der weibliche Samen ist das eiweißreichste Organ der Pflanze. Der männliche Samen wird dem weiblichen durch Luftströme oder Insekten, also auf passivem Wege zugeführt. Nach der Kopulation senkt sich das Produkt in die Erde und wächst zunächst unter anaeroben Bedingungen. Der Pflanzensamen ist mit einer Schutzhülle umgeben, die durch Verdickung, Verkorkung oder Verholzung oder auch Verschleimung, also Kondensationsprozesse entsteht". Das aus dem botanisch-zoologischen Teil! Aber auch im bakteriologischen Teil ist man erstaunt, zu lesen, daß z. B. von Vertretern der Ordnung Pseudomonadales „sogar freier Stickstoff gespeichert" wird und daß die peritrichen Geißeln vieler Bodenbakterien nicht etwa der Fortbewegung dienen. „Ihre Aufgabe scheint vor allem darin zu bestehen, daß sie durch eine peitschende Bewegung für Wechsel der Nährstoffe sorgen." Die Leguminosenknöllchenbakterien werden in der Gattung Rhizobium zusam-

mengefaßt, und von den Vertretern derselben wird behauptet, daß sie Nitrate zu Stickstoff reduzieren.

Es muß Verf. schon zugestimmt werden, wenn er im Vorwort sagt: „Das vorliegende Büchlein ist nicht leichte Lektüre." Stapp.

Mainx, F., Die Sexualität als Problem der Genetik. Versuch eines kritischen Vergleichs der wichtigsten Theorien. Jena (Gustav Fischer) 1933. 88 S. Preis 5 RM.

Verf. setzt es sich zum Ziel, den Wert der bislang entwickelten Theorien von der Vererbung und Bestimmung des Geschlechts zu prüfen und gleichzeitig zu entscheiden, welcher der Theorien der Vorzug zu geben ist. Außerdem ist er bestrebt, der Verwirrung zu steuern, die zu einem großen Teil nur in der Verschiedenheit der Ausdrucksweise und in der Überschneidung der von den verschiedenen Autoren gelieferten Begriffsbestimmungen begründet liegt.

Wie schon der Titel sagt, ist die Arbeit genetisch orientiert. Verf. scheidet streng zwischen der diplogenotypischen und haplogenotypischen Geschlechtsbestimmung (erstere bei den höheren Pflanzen und Tieren, letztere bei den Thallophyten gegeben). Den Versuch früherer Autoren, beide miteinander in direkte Beziehung zu bringen, lehnt er ab, da er die Auffassung vertritt, „daß ‚Geschlecht' der Gamophase und ‚Geschlecht' der Zygophase zwei verschiedene Erscheinungen sind, die auf verschiedenen genotypischen Grundlagen beruhen". Deshalb verzichtet er auch darauf, phylogenetisch beide Erscheinungen zueinander in Beziehung zu setzen.

Von der Auffassung ausgehend, daß das Kriterium der Sexualität lediglich in der Verschmelzung zweier Kerne und der darauf folgenden Reduktionsteilung gegeben ist, lehnt Verf. alle Versuche, zu einer physiologisch fundierten Theorie der Sexualität zu gelangen, als unbefriedigend ab, da sie uns keine kausale Erklärung der Sexualität geben können. Die physiologische „Verschiedenheit der Kopulanten, die überall die Ursache ihrer sexuellen Reaktionsfähigkeit sein soll, ist ein leerer, durch keine physiologischen Experimentalbefunde gestützter und daher rein hypothetischer Begriff". Am schlechtesten kommt hierbei die von Hartmann zu einer allgemeinen Sexualitäts- und Befruchtungstheorie ausgebaute Bütschli-Schaudinnsche Hypothese der geschlechtlichen Fortpflanzung weg. Gleicherweise spricht er sich gegen die von Hartmann begründete „Theorie der relativen Sexualität" aus, da ein auf experimenteller Grundlage geführter Beweis fehle und die zur Stützung der Theorie angeführten Befunde auch einer einfacheren physiologischen Deutung zugänglich sein dürften.

Was die Frage der erblichen Fundierung der Sexualität anbelangt, läßt Verf. für die diplogenotypische Geschlechtsbestimmung sowohl die Corrensche Realisatorentheorie wie die Goldschmidtsche Theorie der Geschlechtsfaktoren gelten. Die Unterschiede zwischen den beiden Theorien seien nicht von wesentlicher Bedeutung. In bezug auf die haplogenotypische Geschlechtsbestimmung schließt er sich weitgehendst der Auffassung Knieps an, nach der „kopulationsbedingende Mendelfaktoren" darüber entscheiden, ob der Sexualakt zustandekommt oder nicht.

Die Abhandlung ist rein theoretisch gehalten. Die Darstellung ist klar und eindringlich. Doch muß als Mangel empfunden werden, daß dem Buch kein Bildmaterial beigegeben ist, das die Lektüre bedeutend erleichtert

hätte. Einige wenige gut ausgewählte Schemata hätten diesen Mangel vollkommen behoben.

Es ist zu erwarten, daß die stellenweise sehr scharf gehaltene Kritik nicht unbeantwortet bleiben wird. K. O. Müller (Berlin-Dahlem).

Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, herausgeg. von E. Abderhalden, Abt. IX, Teil 7, Heft 3. **Zacher, Friedrich,** Haltung und Züchtung von Vorratsschädlingen. Berlin 1933. S. 389—592, 196 Abb.

Die Darstellung enthält nicht nur die Zuchtmethoden, sondern auch eine kurze Lebensgeschichte der in Betracht kommenden Insekten und sonstigen Gliedertiere, ihrer Entwicklung und Entwicklungsdauer, dazu vortreffliche Abbildungen jeder Art, selbst ihrer Fraßbilder (!) sowie der Zuchtgefäße. Diese Ausführlichkeit wird dem Leser meist willkommen sein, da Vorratsschädlinge zu vielen experimentellen Studien besonders geeignet sind, aber sie überschreitet doch wohl sehr den Rahmen des Gesamtwerkes.

K. Friederichs.

Enzymologie und Bakteriophagie.

Myrbäck, K. und **Larsson, H.,** Über die Wirkungsweise des Eulerschen Z-Faktors. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 118—133.)

Der Z-Faktor aktiviert die Gärung frischer Hefe auch ohne Zellzuwachs. Die durch Trockenhefe hervorgerufene Gärung sollte nach den bisher vorliegenden Arbeiten nicht gefördert werden. Da demnach der Z-Faktor nicht zum Zymasesystem gehörte, war seine Wirkungsweise unklar. Jede Apozymase enthält beträchtliche Mengen von Faktor Z, weil dieser selbst durch langes und sorgfältiges Auswaschen nicht entfernt werden kann. Versuche mit frischer obergäriger Preßhefe zeigten, daß die prozentuale Aktivierung der Gärung durch den Z-Faktor bei kleiner Hefemenge viel größer ist als bei großer, vielleicht weil der Sauerstoff im ersteren Falle reichlicher zur Verfügung steht und dementsprechend die Atmung neben der Gärung stärker hervortritt. Es mußten also Gärung und Atmung getrennt studiert werden. Es zeigte sich, daß die Atmung durch den Faktor Z nur unbedeutend beeinflußt wird, die aerobe Gärung aber prozentual viel stärker aktiviert wird als die anaerobe Gärung. Bei Versuchen mit Trockenhefe, die vorher als Frischhefe untersucht worden war, wurde dasselbe festgestellt. Auch die anaerobe Gärung der Trockenhefe wurde durch den Z-Faktor aktiviert. Dieser wirkt also auf die Zymase. Weitere Einzelheiten im Original.

R. Koch (Berlin).

Davis, J. G., and **Mattick, A. T. R.,** Studies in the metabolism of the lactic acid bacteria. I. Nitrogen metabolism. (Journ. of Dairy Research. Vol. 4. 1932. p. 81.)

Die Milchsäurebakterien können mit bekannten Aminosäuren als einzige Stickstoffquelle nicht wachsen. Die Anwesenheit von Wachstumsfaktoren erlaubte die Benutzung von diesem einfachen Stickstoff nicht. Eine Untersuchung von Wachstumsgeschwindigkeiten in verschiedenen Peptonnährböden zeigte, daß die Milchsäurebazillen am schnellsten in „Fairchild's" Pepton, dem Amino-N-reichsten, wachsen. Die Milchsäurestreptokokken wachsen jedoch am besten in „Bacto-Proteose"-Pepton, das am meisten Proteose-N enthält. 17tägige peptische Kaseinverdauungen ergaben das

beste Wachstum von Streptokokken, während bei längerer Verdauung die besten Ergebnisse für die Bazillen gefunden wurden. Diese Erscheinung wurde auch bei tryptischen, sauren und alkalischen Kaseinverdauungen beobachtet.

Davis (Heidelberg).

Neuberg, C. und Kobel, M., Überführung der synthetischen Glyzerinsäure-mono-phosphorsäure in Brenztraubensäure mittels Hefe und Milchsäurebakterien. (Biochem. Z. Bd. 260. 1933. S. 241—246.)

Frische Hefe (in Gegenwart von Toluol) verwandelte Glyzerinsäure-mono-phosphorsäure in Brenztraubensäure. Die bei einem Anfangs-ph von 6,6 verlaufende Umwandlung führte zu einer Anhäufung der Brenztraubensäure, weil bei dieser Azidität die Carboxylase stark gehemmt ist. Dennoch konnte etwas Azetaldehyd neben der Brenztraubensäure nachgewiesen werden. An Stelle der Hefe kann auch Bact. Delbrücki die geschilderte Reaktion bewirken. Azetaldehyd wurde in diesem Falle nicht gefunden.

R. Koch (Berlin).

Neuberg, C. und Kobel, M., Über Vergärung von Methylglyoxal. (Biochem. Z. Bd. 258. 1933. S. 365—370.)

Da Methylglyoxal ebenso wie Brenztraubensäure und Acetaldehyd eine Sulfitverbindung liefert, war schwer verständlich, warum man in sulfithaltigen Gäransätzen stets nur Acetaldehyd abfangen kann. Vergärt man Methylglyoxal-Natriumbisulfit mit Trockenhefe oder Mazerationssaft in Gegenwart von viel Sauerstoff, so entsteht über Brenztraubensäure Acetaldehyd, der leicht abgeschieden und quantitativ bestimmt werden kann.

R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K., Böckl, N. und Siebenäuger, H., Zum Chemismus der durch Aspergillus niger bewirkten Säurebildungsvorgänge. VII. Mitteilung: Über die Umwandlung von Alkohol in Zitronensäure. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 16—24.)

Von 28 Stämmen des Aspergillus niger bildete eine große Anzahl Zitronensäure aus Alkohol in Mengen bis zu 25% der Theorie, daneben wurde auch Oxalsäure gefunden. Als Nebenprodukte konnten Äpfelsäure, Weinsäure und eine reduzierende Substanz festgestellt werden.

R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K. und Böckl, N., Zum Chemismus der durch Aspergillus niger bewirkten Säurebildungsvorgänge. VIII. Mitteilung: Über die Umwandlung von Aconitsäure in Zitronensäure und weiteres über den Abbau der Essigsäure. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 25—29.)

Die bei der biochemischen Umwandlung von Acetaten durch Aspergillus niger entstehenden Säuren Oxalsäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure und Apfelsäure wurden nebeneinander analytisch bestimmt und präparativ isoliert. Auch über einige Versuche zur Zitronensäurebildung aus Aconitsäure wird berichtet. R. Koch (Berlin).

Bernhauer, K., Böckl, N. und Siebenäuger, H., Über die Säurebildung aus Zucker durch Aspergillus niger. V. Mitteilung: Die Bildung von Äpfelsäure neben Zitronensäure. (Biochem. Z. Bd. 253. 1932. S. 37—41.)

Aspergillus niger lieferte in Zuckerkulturen neben Zitronen-

säure geringe Mengen von Äpfelsäure als einziges Nebenprodukt. Aus 975 g Rohrzucker wurden 500 g Zitronensäure und 2 g Äpfelsäure gebildet.

R. Koch (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Hucker, G. J., The laboratory detection of bovine mastitis. (N. Y. State Agr. Exp. Stat. Bull. Nr. 626. 1932.)

Verf. behandelt den Nachweis der chronischen Mastitis. Für die Probenahme empfiehlt er so viel Erstmilch wegzumelken, bis die Zisterne sicher leer ist. Zur vergleichenden Untersuchung kamen folgende Verfahren: 1. Mikroskopische Keimzahlmethode nach Breed. 2. Vormelkschale mit Drahtsieb. 3. Bromthymolblauprobe. 4. Burris quantitative Ausstrichkultur. 5. Gewöhnliche Plattenmethode. 6. Bebrütung aseptisch entnommener Proben über Nacht bei 37° C. 7. Leukozytennachweis. 8. Laktosebestimmung. 9. Chlorprobe. 10. Katalaseprobe. 11. Trommsdorffprobe. 12. Stewart-Slacks Zentrifugatausstrichmethode. 13. Klinische Untersuchung. Die meisten positiven Resultate wurden an Hand der mit 9, 10 und 13 bezeichneten Verfahren erhalten, mittlere Ergebnisse wurden mit den unter 4, 5 und 6 bezeichneten Verfahren erzielt, die Proben 2 und 3 bildeten den Übergang zu der am wenigsten empfindlichen Methode der mikroskopischen Untersuchung nach Breed.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Yale, M. W., Bacteriological studies of a high-temperature, shorttime pasteurizer. (N. Y. State Agr. Exp. Stat., Techn. Bull. Nr. 207 [1933].)

Der benutzte Momenterhitzer war ein Röhrenerhitzer mit dem Namen „Precision-Pasteurizer". Die Milch wurde zunächst im Austauscher von 10 auf 54,4° C erhitzt, dann durch Tuchfilter gereinigt (unter Druck), im ersten Erhitzungsabteil von 54,4 auf 61,7 ° C und im zweiten Abteil von 61,7 auf 71,1° C weiter erhitzt. Zum Vergleich wurden auch Laboratoriumsversuche durchgeführt und dünnwandige Reagenzröhren denselben Erhitzungsetappen unterworfen wie im großen Apparat, des weiteren wurden Dauererhitzungsversuche mit derselben Milch im praktischen Betrieb und Laboratorium angesetzt. Die angewendeten bakteriologischen Methoden waren diejenigen der Standardmethode der Am. Publ. Health Association. Die Ergebnisse sind folgende: Die im Laboratorium erhaltenen Keimreduktionen waren durchschnittlich stärker als diejenigen, die in den handelsüblichen Apparaten erzielt werden. Die Dauerpasteurisierung im Haltetank bewirkte in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle etwas niedrigere Keimzahlen als die kurzfristige Erhitzung und einen Durchschnittskeimgehalt nach der Pasteurisierung von 17 200 pro Kubikzentimeter Milch im Vergleich zu 20 600 der momenterhitzten Milch. Praktisch fallen aber diese Unterschiede nicht ins Gewicht. Bei der Aufbewahrung der in Flaschen abgefüllten kurzfristig erhitzten Milch während 24 Std. bei einer Temperatur von 5—7° wurde beobachtet, daß der Durchschnittskeimgehalt von 31 Proben von 22 800 auf 9 600 pro Kubikzentimeter fiel (d. i. eine Reduktion um 58%). Die Ursache hierfür ist in einem weiteren Absterben oder in einer besonderen Schädigung der überlebenden Organismen zu suchen, da die bei der gleichen Temperatur aufbewahrten diesbezüglichen Rohmilchproben im Gegenteil starkes Ansteigen anstatt Abfallen der Keimzahl zeigten.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Dahlberg, A. C., and Marquardt, J. C., Sterilization of ice cream freezers. (N. Y. State Agr. Exp. Stat., Bull. Nr. 628. 1933.)

Zu den vorliegenden Desinfektionsversuchen wurden Dampf, Heißwasser und Chlorlösung (100 Teile pro Million) verwendet. Es konnte festgestellt werden, daß die Chlorlösung für sich allein angewendet eine ungenügende Wirksamkeit entfaltete. Heißwasser hatte den einen Nachteil, daß unverhältnismäßig große Mengen benötigt wurden, um eine genügende Sterilisationswirkung zu erzielen, weil der den Hohlraum umschließende Kälteträger zu viel Wärme verbrauchte. Wenn auch das Erhitzen mit Dampf langsam vor sich ging, war es doch sehr wirksam; denn es wurden auch die Lager erfaßt, und die Dampfeinwirkung verursachte eine richtige Trocknung des Apparates. Die Wirkung wurde erhöht durch Kombination des Ausdämpfens mit Gebrauch von Chlorlösung.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Lüers, H. und Jacobsen, S., Der Einfluß kieselsäurehaltigen Brauwassers auf die Hefegärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 347—348.)

In einer Brauerei machte man die Beobachtung, daß die Hefe bei Verwendung eines bestimmten Brauwassers zusehends degenerierte, die Gärungen wurden immer schleppender. Die Untersuchung des fraglichen Brauwassers ergab einen Kieselsäuregehalt von annähernd 4 g/hl, während man sonst in der Regel nur 1—2 g findet. Der Beweis, daß der hohe Gehalt an Kieselsäure die Gärstörungen verursachte, konnte experimentell durch Versuchsgärungen mit und ohne Zusatz von Kieselsäure erbracht werden. Der Grund für die beobachtete Erscheinung dürfte kolloidchemischer Natur sein. Vermutlich schlagen sich kolloide Kieselsäure und andere mit ihr vergesellschaftete organische Komplexe auf der Hefeoberfläche nieder und stören mechanisch die Gärfunktion. Brachte man in Kieselsäure enthaltendem Medium gewachsene und durch sie geschädigte Hefe nach mehreren Führungen in normale Würze zurück, so erholte sie sich rasch und gewann ihr normales Gärvermögen wieder zurück. Heuß (Berlin).

Stockhausen, F., Neue Wege der Brauereibiologie. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 674.)

Biologische Probleme sind heute für die Entwicklung der Technik richtunggebend. Sie hat die Möglichkeit geschaffen, die Luft von Keimen zu befreien, das Wasser durch Filtration zu entkeimen oder durch Chlor und Katalyse. Biologische Erwägungen beeinflußten auch die Gärverfahren und schufen eine Reihe von anderen Verbesserungen in der Brauerei. Trotz aller Errungenschaften sind Infektionen im Braubetrieb noch nicht verschwunden, aber in ihrer Ursache wenigstens besser erkannt. So weiß man von der gefürchteten Sarzina, daß sie hochmolekulares Eiweiß bevorzugt und andererseits gegen Säure empfindlich ist. Ein starker Helfer gegen diesen Schädling ist der Hopfen, einmal durch die Giftwirkung der Bittersäure, aber auch dadurch, daß er hochmolekulares Eiweiß aus der Bierwürze ausfällt und der Sarzina damit die besten Nährstoffe entzieht.

Die Annahme, daß in endvergorenen Bieren keine Hefeentwicklung mehr stattfinden könne, ist nicht haltbar. Man hat beobachtet, daß auch in solchen Bieren im Laufe der Zeit aus Hefe bestehende Bodensätze entstehen. Da Diastase für einen weiteren Zuckerabbau nicht mehr vorhanden ist, muß der Vorgang als eine durch die Säure bedingte Hydrolyse hoch-

molekularer Zucker zu vergärbaren Zuckern gedeutet werden, die der Hefe als Gärmaterial dienen können. Der durch Spindelung feststellbare Extraktwert solcher Biere sinkt dabei recht erheblich.

Die Flockungserscheinungen der Hefe werden nach neueren Untersuchungen durch den Gehalt der Hefe an Hefegummi verursacht und beeinflußt. Obergärige Hefe enthält fast kein Hefegummi. Heuß (Berlin).

Koch, R., Erkennung und Unterscheidung hoch- und niedrigvergärender Bierhefen im laboratoriumsmäßigen Gärversuch. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 342—343.)

Um bei der Isolation und Eignungsprüfung eines neuen Hefestammes das zeitraubende Herführen einer für einen kleinen Bottich ausreichenden Impfmenge zu umgehen, hat Verf. Probegärungen in isolierten 15 l-Glasstutzen durchgeführt und unter Einhaltung der praktisch bestehenden Verhältnisse Gärbilder erhalten, aus denen wichtige Schlüsse auf die Eigenschaften des betreffenden Stammes gezogen werden konnten, wenn auch eine sichere Unterscheidungsmöglichkeit zwischen hoch- und niedrigvergärenden Rassen noch nicht gegeben war. Wesentlich ist jedenfalls, daß eine zum Anstellen von 15 l Würze notwendige Menge Hefe rasch gezüchtet werden kann.

Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Anonym, Snapdragon rust: a new disease in England. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 40. 1933. p. 486—487.)

Antirrhinum ist eine europäische Pflanze, die nach Amerika eingeführt wurde. Die Puccinia Antirrhinii wurde aber bisher nur in Amerika beobachtet. In diesem Jahr tauchte sie jedoch in Südengland an etwa 10 Stellen auf. Beim Auftreten wird das Verbrennen der kranken und der in der Nähe stehenden gesunden Pflanzen empfohlen. Der Boden ist außerdem mit einer 1 proz. Kupfersulfatlösung zu bespritzen.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Samuel, G., Bald, I. G., and Eardley, C. M., „Big-Bud" a virus disease of the tomato. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 641—653, 5 figs.)

Die von den Verff. als „big-bud", von Cobb als „rosette" bezeichnete Krankheit kommt in allen australischen Staaten vor, besonders aber in Neu-Süd-Wales und Victoria. Es wurde ein Befall bis zu 100% beobachtet. Die Krankheit ruft im späten Stadium eine vollkommene Deformation der Pflanze hervor. Verff. sind der Ansicht, daß es sich um eine Viruskrankheit handelt, die zwar durch mechanische Infektion nicht, wohl aber durch Okulieren und Pfropfen übertragen werden konnte. Bei einigen Pflanzen von Solanum nigrum zeigten sich ähnliche Symptome wie bei der Tomate. Durch Augen von kranken Tomaten konnte die Krankheit nicht auf Tabak oder Nicotiana glutinosa übertragen werden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Berichtigung

zu der Arbeit von Groß und Hindrikson S. 259: Anstatt 1% Caporit bzw. 1,5% Chlorkalk muß es natürlich konform den anderen angegebenen Werten 0,01 bzw. 0,015‰ heißen. K. J. Demeter.

Abgeschlossen am 21. Februar 1934.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 89 enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

Hofbuchdruckerei Rudolstadt